BAND 43, HEFT 2 DEZEMBER 1961

PHYTOPATHOLOGISCHE ZEITSCHRIFT

Begründet von Prof. Dr. E. SCHAFFNIT

Unter Mitwirkung von

Prof. Dr. E. BALDACCI, Mailand / Prof. Dr. H. BRAUN, Bonn / Prof. Dr. W. B. BRIERLEY, Keswick-Cumberland / Dr. G. L. FARKAS, Budapest / Prof. Dr. N. HIRATSUKA, Tokyo / Oberreg.-Rat i. R. Dr. E. KÖHLER, Braunschweig / Prof. Dr. K. O. MÜLLER, Canberra / Prof. Dr. T. S. SADASIVAN, Madras / Prof. Dr. TR. SAVULESCU, Bukarest / Prof. Dr. K. SILBERSCHMIDT, São Paulo / Prof. Dr. E. C. STAKMAN, St. Paul

herausgegeben von den Professoren

E. GÄUMANN Zürich

M. KLINKOWSKI Aschersleben

H. RICHTER Berlin-Dahlem

Mit 50 Abbildungen

1961

PAUL PAREY IN BERLIN UND HAMBURG

Phytopath. Z. Bd. 43 **Heft 2** *S. 113—220 Berlin 1961/62*

Postverlagsort Berlin

COMMONWEALTH MYCOLOGICAL INSTITUTE 8 JAN 1962

INHALT

Abhandlungen

HANTSCHKE, D., Untersuchungen über Welkekrankheiten der Edelnelke in Deutschland und ihre Erreger. Mit 31 Abb. 113

KRÜGER, W., Das Schicksal von Antibiotika in Tomatenpflanzen. III. Beeinflussung der Antibiotikaaufnahme durch Wuchsstoffe 169

TAKAI, S., Studies on the Metabolism of *Helicobasidium mompa* Tanaka. 1. Helicobasidin, a Pigment isolated from Culture of the Fungus. With 4 figures 175

NIENHAUS, F., Beobachtungen über das Kartoffel-Y-Virus in der Kartoffelpflanze unter besonderer Berücksichtigung der Knolle. II. Virushemmstoffe in der Kartoffelpflanze. Mit 8 Abb. 183

Kurze Mitteilungen

BAUMANN, G., Das Vorkommen des Virus der Stecklenberger Krankheit im Pollen von *Prunus cerasus* L. 205

WETTER, C., und H. L. PAUL, Die Darstellung des carnation latent-Virus in hochgereinigter Form. Mit 2 Abb. 207

BEHR, L., Über das Auftreten der Kragenfäule in Mitteldeutschland. Mit 3 Abb. 213

SCHMIDT, H. E., und H. B. SCHMIDT, Nachweis stäbchenförmiger Viruspartikeln in Knospen von Hopfenfechsern (Vorläufige Mitteilung). Mit 2 Abb. 216

Besprechungen 219

Manuskripte: In deutscher, englischer, französischer oder italienischer Sprache abgefaßte Originalarbeiten werden druckfertig und möglichst in Schreibmaschinenschrift erbeten. Aufnahme von Tabellen und Abbildungen unterliegt jeweils vorheriger Vereinbarung.
„Kurze Mitteilungen" sind solche Veröffentlichungen in den vorerwähnten Sprachen, die im allgemeinen einen Umfang von vier Druckseiten nicht übersteigen. Sie erscheinen möglichst schon im nächsten Heft.
Die „Besprechungen" erscheinen nur in deutscher Sprache.

Herausgeber: Prof. Dr. E. GÄUMANN, Zürich 6, Universitätsstraße 2, Prof. Dr. M. KLINKOWSKI, Aschersleben, Theodor-Roemer-Weg 4, und Prof. Dr. H. RICHTER, Berlin-Dahlem, Königin-Luise-Str. 19. Zusendung der Manuskripte von Originalarbeiten und „Kurzen Mitteilungen" entweder an den Verlag Paul Parey, Berlin SW 61, Lindenstraße 44/47, oder an einen der drei Herausgeber.
Zusendung der „Besprechungen" unmittelbar an Prof. RICHTER, Berlin-Dahlem. Soweit nicht eine Aufforderung der Herausgeber zur Besprechung bestimmter Arbeiten ergangen ist, empfiehlt es sich, Prof. RICHTER vorher von der Absicht der Besprechung zu verständigen.

Honorierung: Das Mitarbeiterhonorar für Originalarbeiten und „Kurze Mitteilungen" beträgt 32,— DM je Druckbogen von 16 Seiten. Bei Beiträgen von mehr als drei Bogen werden nur die ersten drei Bogen honoriert; Dissertationen und Buchbesprechungen sind honorarfrei.

Sonderdrucke: Jeder Mitarbeiter erhält unberechnet 30 Sonderdrucke seines Beitrages (Originalarbeiten und Kurze Mitteilungen), Mehrbedarf gegen Berechnung.

Vorbehalt aller Rechte, insbesondere auch der photomechanischen Vervielfältigung: Alle Rechte, auch die der Übersetzung, des Nachdrucks und der photomechanischen Wiedergabe sind vorbehalten. Gewerblichen Unternehmen wird die Anfertigung einer photomechanischen Vervielfältigung von Beiträgen oder Beitragsteilen für den innerbetrieblichen Gebrauch durch Photokopie, Mikrokopie und dergleichen, nach Maßgabe des zwischen dem Börsenverein des Deutschen Buchhandels und dem Bundesverband der Deutschen Industrie abgeschlossenen Rahmenabkommens vom 14. 6. 1958, gegen Bezahlung der dort vorgesehenen Gebühr bis zu 3 Exemplaren gestattet. Die Vervielfältigungen haben einen Vermerk über die Quelle und den Vervielfältiger zu tragen. Die in dem Rahmenabkommen vorgesehene Gebühr ist an die Inkassostelle für Photokopiergebühren beim Börsenverein des Deutschen Buchhandels e. V., Frankfurt/M., Gr. Hirschgraben 17-19, zu entrichten. Erfolgt die Entrichtung der Gebühren durch Wertmarken der Inkassostelle, so ist für jedes Photokopierblatt eine Marke im Werte von DM 0,30 zu verwenden. Mit der Überlassung des Manuskriptes überträgt der Verfasser dem Verlag das Recht zu dieser Genehmigung.

Erscheinungsweise: Die Zeitschrift erscheint in zwangloser Folge. Jährlich erscheinen etwa 10—12 Hefte, von denen 4 einen Band bilden. Jedes Heft enthält etwa 7 Druckbogen.

Bezugsbedingungen: Der Preis des Bandes richtet sich nach dem Umfang. Er beträgt je Druckbogen von 16 Seiten etwa 3,75 DM. Die Hefte sind auch einzeln käuflich. Das Abonnement verpflichtet zum Bezug eines ganzen Bandes. Es verlängert sich jeweils, falls nicht spätestens unverzüglich nach Eingang des letzten Heftes des berechneten Bandes Abbestellung erfolgt.

Verlag: Paul Parey, Berlin und Hamburg, Berlin SW 61, Lindenstraße 44/47, Telefon 61 44 68/69.
Printed in Germany (Westberlin).

Abonnementspreis dieses Heftes 27,60 DM **Einzelpreis 30,40 DM**

Aus der Biologischen Bundesanstalt für Land- und Forstwirtschaft, Laboratorium für Zierpflanzenkrankheiten und Institut für Mykologie, Berlin-Dahlem

Untersuchungen über Welkekrankheiten der Edelnelke in Deutschland und ihre Erreger

Von

D. HANTSCHKE

Mit 31 Abbildungen

Inhalt: A. Einleitung und Problemstellung. — B. Die in Deutschland am „Nelkensterben" beteiligten Pilze und Bakterien. I. Herkunft des Pflanzenmaterials; II. Technik der Isolierung; III. Häufigkeit der einzelnen Erreger. — C. Die einzelnen Welkekrankheiten und ihre gefäßparasitären Erreger. I. Tracheomykosen: a) Die *Phialophora*-Welkekrankheit, b) Die *Fusarium*-Welkekrankheiten, c) Die *Rhizoctonia*-Welkekrankheit; II. Tracheobakteriosen: a) Die *Pectobacterium*-Welkekrankheit, b) Die *Pseudomonas*-Welkekrankheit. — D. Diskussion. — Zusammenfassung. — Summary. — Literaturverzeichnis.

A. EINLEITUNG UND PROBLEMSTELLUNG

Der Anbau der Edelnelke — *Dianthus caryophyllus* — hat in Deutschland in den Jahren nach dem letzten Kriege außerordentlich stark zugenommen (MÜCKE 1959, LUXEM 1960, SCHALT 1960 und REDLIN 1961). Nach LUXEM (l. c.) betrug die Anbaufläche in Westdeutschland 1960 — ohne die Länder Berlin, Hamburg und Bremen mit ihrem beachtlichen Nelkenanbau — 129 ha, das sind etwa 25 % mehr als im Jahre vorher. Die Edelnelke dürfte damit neben dem *Chrysanthemum* für den westdeutschen Erwerbsgartenbau heute die wirtschaftlich wichtigste Schnittblume sein. Eine ähnlich stürmische Ausweitung des Nelkenanbaues hat sich auch in vielen anderen europäischen Gartenbauländern vollzogen (WASSCHER 1959).

Leider gehört die Nelke jedoch zu denjenigen Zierpflanzen, die durch Krankheiten und Schädlinge in besonderem Maße gefährdet sind. Unter diesen haben Welke- und Absterbeerscheinungen, die in der Praxis im allgemeinen als „Nelkensterben" oder „Nelkenschwindsucht" bezeichnet werden, die größte Bedeutung. Ausfälle von etwa 50 bis 80 %, die eine Fortsetzung der Kultur

selbstverständlich unrentabel werden lassen, sind durchaus nicht selten (Abb. 1). Zweifellos zählt das „Nelkensterben" zu den für den deutschen Zierpflanzenanbau wirtschaftlich wichtigsten Krankheitserscheinungen.

Abb. 1. Große Ausfälle durch „Nelkensterben" in einer Gärtnerei

Die Begriffe „Nelkensterben" und „Nelkenschwindsucht" kennzeichnen freilich nur die Krankheitsbilder, sagen jedoch nichts über ihre Ursachen aus, deren genaue Kenntnis in diesem Falle auch praktisch besonders wichtig ist. Es können nämlich zwei biologisch recht verschiedenartige Krankheitstypen vorliegen:

1. „echte" Welkekrankheiten;
2. Stengelgrundfäulen.

Die „echten" Welkekrankheiten werden durch weitgehend spezialisierte Pilze und Bakterien hervorgerufen, die, zumindest anfangs, auf die Gefäße beschränkt bleiben und diese verfärben (Abb. 2).

Diese Gefäßparasiten dringen in der Regel über die Wurzeln in die Pflanze ein (Abb. 2) und wachsen bis in die Triebspitzen hinauf, und zwar oft, ohne daß den Nelken äußerlich etwas anzusehen ist; auch der Stengelgrund ist im typischen Falle äußerlich völlig intakt (Abb. 2). Da die Infektion unter bestimmten Bedingungen Monate lang latent bleibt, können die Erreger der „echten" Welkekrankheiten mit Stecklingen übertragen werden.

Die Stengelgrundfäulen dagegen werden durch nicht spezialisierte Pilze hervorgerufen, die primär die Rinde angreifen und im Bereich der Bodenoberfläche schon früh auch äußerlich sichtbare Läsionen verursachen (Abb. 3). Im Gegensatz zu den Gefäßparasiten, welche unverletzte Nelken selbst unter günstigen Kulturbedingungen zu befallen vermögen, dürften die Erreger der

Stengelgrundfäulen durch Verletzungen und ungünstige Kulturbedingungen entscheidend gefördert werden. Da sie nur die Basis der Pflanzen befallen, besteht keine Gefahr der Übertragung mit Stecklingen.

Die Ätiologie des „Nelkensterbens" ist vor allem im Ausland Gegenstand zahlreicher Untersuchungen gewesen, so daß dort über die beteiligten Erreger, ihre Bedeutung und die von ihnen verursachten Krankheiten bereits verhältnismäßig klare Vorstellungen bestehen. Als Erreger von Tracheomykosen und Tracheobakteriosen — also „echten" Welkekrankheiten — werden genannt:

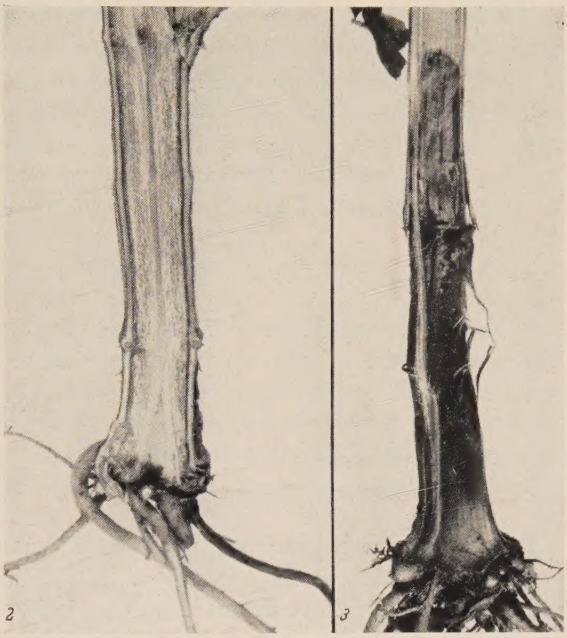


Abb. 2. Typisches Bild einer „echten" Welkekrankheit (Längsschnitt durch Stengelbasis)
Abb. 3. Typisches Bild einer Stengelgrundfäule (Längsschnitt durch Stengelbasis)

Fusarium oxysporum Schl. f. *dianthi* (Prill. et Del.) Snyder et Hansen (syn.: *Fusarium dianthi* Prill. et Del.)

Die ersten Hinweise auf eine durch *Fusarium* hervorgerufene Welkekrankheit der Nelke stammen aus Frankreich (Mangin 1899 und 1900, Prillieux und Delacroix 1899 und Delacroix 1900). Prillieux und Delacroix (l. c.) beschrieben den Erreger und nannten ihn *Fusarium dianthi.* In den USA wurde etwa gleichzeitig ein *Fusarium* als Ursache von Ausfällen in Nelkenkulturen festgestellt (Sturgis 1898). Ob in diesen Fällen tatsächlich derjenige Welkeerreger vorlag, der heute unter dem Namen *F. oxysporum* f. *dianthi* bekannt ist, läßt sich allerdings nicht mit Sicherheit sagen. Es dürfte jedoch feststehen, daß Mangin (1899) mit einem gefäßparasitären *Fusarium* arbeitete; denn er versuchte, latent infizierte Stecklinge von gesunden durch ein Testverfahren zu trennen. Während der vergangenen 60 Jahre soll dieser Erreger in folgenden Ländern aufgetreten sein: Argentinien (Carrera 1940), Dänemark (Hellmers 1958), Frankreich (Fron 1936, Moreau 1953 a und 1953 b, 1957), Großbritannien (Wickens 1935, White 1936 a), Hawai (Murakishi und Hendrix 1950), Italien (Bongini 1930, Calvino 1937, Sibilia 1957), Neuseeland (Cunningham 1931), Niederlande (Noordam 1950), Schweden (Hellmers 1960), Tschechoslowakei (Zimmermann 1924) und USA (Bickerton 1942, Guba 1945, Armstrong und Armstrong 1953 und 1954, Hood und Stewart 1957).

Während es sich in der Mehrzahl dieser Fälle lediglich um unbelegte Meldungen handelt, wurde in Frankreich, Großbritannien, den Niederlanden, Schweden und den USA *F. oxysporum* f. *dianthi* durch Infektionsversuche mit näheren Angaben über den Erreger und die Krankheitsbilder eindeutig nachgewiesen. Über größere Verluste durch diese Krankheit liegen nur aus den USA und aus Frankreich Berichte vor, in den anderen Ländern war sie dagegen offenbar von geringer Bedeutung.

Fusarium redolens Wr. f. *dianthi* Gerlach

Dieser Pilz wurde erst 1955 in einer Berliner Gärtnerei gefunden und als neuer Erreger einer Tracheomykose an Nelken nachgewiesen und beschrieben (GERLACH und PAG 1961).

Phialophora cinerescens (Wr.) van Beyma
(syn.: *Verticillium cinerescens* Wr.)

Erstmalig beschrieb WOLLENWEBER 1929 diesen Gefäßparasiten, den er aus welkekranken Nelken einer Gärtnerei in Geisenheim (Rheingau) isoliert hatte. Später wurde der Erreger auch in Großbritannien (WICKENS 1935, WHITE 1936 a, b, c und 1938, JENKINS 1959), in den Niederlanden (ROODENBURG 1945, NOORDAM 1948 und 1950), in den USA (GUBA 1945, SCHNEIDER et al. 1950), in Frankreich (MOREAU und MOREAU 1956, MOREAU 1957), in Italien (PESANTE 1958), in Dänemark, Norwegen und Schweden (HELLMERS 1958) nachgewiesen. Aus allen diesen Arbeiten geht eindeutig hervor, daß dieser Pilz in den einzelnen Ländern große Verluste in den Nelkenkulturen verursachte.

Rhizoctonia solani Kühn

Für diese Sammelart gibt BRAUN (1930) 230 Wirtspflanzen aus verschiedenen Familien an. Während *R. solani* fast immer unspezifische Fäulen hervorruft, berichtet PESANTE (1959) über einen Fall, der ein Auftreten dieses Pilzes als Gefäßparasit vermuten läßt. Er isolierte ihn aus Wurzeln und unteren Stengelpartien von Nelken, die im Wachstum zurückgeblieben waren, aber nicht welkten. Er konnte den Pilz nur in den Tracheiden feststellen.

Pseudomonas caryophylli (Burk.) Starr et Burkholder
(syn.: *Phytomonas caryophylli* Burk.)

Im Jahre 1940 beobachtete JONES (1941) erstmalig in den USA eine Tracheobakteriose an Edelnelken, die einen Ausfall von etwa 30 % verursachte. BURKHOLDER (1942), dem der Erreger zur Bestimmung vorgelegt wurde, beschrieb ihn als *Phytomonas caryophylli.* Auf Grund weiterer Untersuchungen wurde dieses Bakterium jedoch im gleichen Jahr in *Pseudomonas caryophylli* (Burk.) Starr et Burkholder (1942) umbenannt. In den folgenden Jahren trat dieser ursprünglich im Staate Washington gefundene Gefäßparasit auch in an-

deren Staaten der USA auf (Creager 1942, Guba 1947, Guba und Ames 1953), wo er ebenfalls starke Verluste in den Nelkenkulturen hervorrief. In Europa ist seine wirtschaftliche Bedeutung gering. Er wurde nur vereinzelt in Großbritannien (Lelliott 1956), in den Niederlanden (Bakker 1957) und in Dänemark (Hellmers 1958) nachgewiesen.

Pectobacterium parthenii (Starr) Hellmers v. *dianthicola* Hellmers

Bakker und Scholten (1955) fanden in den Niederlanden eine Tracheobakteriose und hielten den Erreger zunächst für *Ps. caryophylli.* Lelliott (1956) beobachtete diese Krankheit in elf englischen Nelkenbetrieben. Nach seiner Auffassung handelte es sich bei dem Erreger um ein *Erwinia chrysanthemi* (Burkholder et al. 1953) sehr nahe verwandtes Bakterium. Hellmers (1958), der eine Tracheobakteriose 1954 und 1955 in dänischen Nelkenkulturen feststellte, wies durch biochemische Reaktionen und Infektionsversuche nach, daß es sich in den drei genannten Ländern um den gleichen Erreger handelte und beschrieb ihn als *Pectobacterium parthenii* v. *dianthicola.*

Dieses Bakterium ist heute in einigen europäischen Ländern weit verbreitet; in den USA wurde es bisher noch nicht festgestellt.

Als Erreger von Stengelgrundfäulen werden in der ausländischen Literatur hauptsächlich genannt:

Fusarium avenaceum (Fr.) Sacc.

in Dänemark (Hellmers 1960), in Frankreich (Moreau 1953 b und 1957), in Großbritannien (Dowson 1929, Wickens 1935), in Italien [Verona 1932, Corneli 1934, Camici 1948, Andreucci[1]) 1958], in Norwegen [Roll-Hansen 1950) und in den USA [Guba 1945, Baker[1]) 1957, Tammen[1]) 1958]:

Fusarium culmorum (W. G. Sm.) Sacc.

in Dänemark (Hellmers 1958 und 1960), in Frankreich (Moreau 1953 b und 1957), in Großbritannien (Dowson 1929, Wickens 1935, White 1936 a, b, c und 1938, Brown 1938) und in den USA (Guba 1945, Thomas 1948, Thomas und Baker 1950);

Rhizoctonia solani Kühn

in Finnland (Linnasalmi 1952), in Frankreich (Moreau 1953 a und 1957), in Italien (Calvino 1937, Camici 1948), in Neuseeland (Robinson 1957), in Süd-

[1]) In diesen Arbeiten werden die als Stengelgrundfäuleerreger genannten Fusarien als *Fusarium roseum* Lk. ex Fr. em. Snyder et Hansen (1945) bezeichnet. Da *F. roseum* im Sinne von Snyder und Hansen jedoch mehrere morphologisch eindeutig verschiedene *Fusarium*-Arten aus vier Sektionen umfaßt, läßt sich nicht beurteilen, welche *Fusarium*-Art bei den oben zitierten Autoren tatsächlich vorgelegen hat. Soweit sie nähere Angaben über die Morphologie der betreffenden Pilze machen, dürfte es sich um *F. avenaceum* handeln.

afrika (WAGER 1931) und in den USA (STEWART 1899, DURRELL 1931, GUBA 1945).

Dagegen sind einige andere Pilze, wie *Fusarium acuminatum* Ell. et Ev. (= *F. scirpi* Lam. et Fautr. v. *acuminatum* [Ell. et Ev.] Wr.) (CAMICI 1948, CARRERA 1941, MOREAU 1953 b, WHITE 1936 a), *Fusarium solani* (Mart.) App. et. Wr. (LINNASALMI 1952), *Fusarium chlamydosporum* Wr. et Rg. (LINNASALMI 1952), *Phytophthora* spp. (HAIGH 1931, WIJERS 1937, FREZZI 1950, SAREJANNI 1952, MOREAU 1957, ANDREUCCI 1959) und *Sclerotium bataticola* Taub. (= *Rhizoctonia bataticola* [Taub.] Butl.) (MOREAU 1957) nur gelegentlich oder ein einziges Mal an Nelken festgestellt worden, wobei in den meisten Fällen der Pathogenitätsnachweis nicht erbracht worden ist.

Im Gegensatz zu den zahlreichen und zum Teil recht eingehenden ausländischen Untersuchungen über die Ätiologie des „Nelkensterbens" liegen für Deutschland nur wenige Angaben vor. So wurden an Gefäßparasiten *F. oxysporum* f. *dianthi* von ESMARCH (1928), MEYER (1934), WOLLENWEBER (1943) sowie GERLACH und PAG (1961), *F. redolens* f. *dianthi* von GERLACH und PAG (1961), *Ph. cinerescens* von WOLLENWEBER (1929), *Ps. caryophylli* von STAHL (1955), *P. parthenii* v. *dianthicola* ebenfalls von STAHL (1958) und von den Stengelgrundfäuleerregern *F. avenaceum* von SCHNEIDER (1958 b) und WEIL (1959) und *F. culmorum* von WEIL (1959) genannt.

Angesichts der beträchtlichen wirtschaftlichen Bedeutung des deutschen Nelkenanbaues und der seit langem regelmäßig eintretenden hohen Verluste ist die Zahl dieser Untersuchungen erstaunlich gering. Hinzu kommt, daß sie sich alle nur auf bestimmte Einzelfälle oder einen eng begrenzten Raum beziehen. Außerdem muß hier festgestellt werden, daß viele dieser Angaben mit gewissem Vorbehalt gewertet werden sollten; denn nur für die genannten Fusarien liegen experimentelle Untersuchungen vor, die Zweifel sowohl an ihrer Identität als auch Pathogenität sicher ausschließen (GERLACH und PAG 1961, SCHNEIDER 1958 b, WEIL 1959). Es ist daher bisher nicht möglich gewesen, eindeutig zu sagen, welche Erreger in Deutschland am „Nelkensterben" beteiligt sind und welche Bedeutung ihnen zukommt. In der Praxis pflegt man Ausfälle durch „Nelkensterben" — oft ohne zwischen „echten" Welkekrankheiten und Stengelgrundfäulen überhaupt zu unterscheiden — generell als „*Fusarium*-Welke" zu bezeichnen. Die Untersuchungen im Ausland haben jedoch gezeigt, daß in den europäischen Nachbarländern *F. oxysporum* f. *dianthi* unter den Welkeerregern durchaus nicht die größte Bedeutung hat. Warum die Verhältnisse bei uns so anders liegen sollten als dort, war angesichts der engen wirtschaftlichen Beziehungen kaum zu verstehen. Es erschien daher dringend notwendig — nicht zuletzt im Hinblick auf praktische Belange, wie z. B. das ständig wichtiger werdende Testen von Nelkenstecklingen —, durch systematische Untersuchungen kranker Pflanzen aus möglichst vielen Betrieben in allen Teilen West-Deutschlands und in Berlin einen Überblick über die hier an dem genannten „Nelkensterben" tatsächlich beteiligten Erreger, ihre Verbreitung und Bedeutung sowie die von ihnen hervorgerufenen Krankheiten zu gewinnen. Damit

wurde 1958 begonnen (HANTSCHKE 1960), über die Ergebnisse wird im folgenden berichtet[1]).

B. DIE IN DEUTSCHLAND AM „NELKENSTERBEN" BETEILIGTEN PILZE UND BAKTERIEN

I. Die Herkunft des Pflanzenmaterials

In der Zeit von September 1958 bis Januar 1961 wurden aus 95 Gärtnereien insgesamt 536 kranke Nelken entnommen und untersucht. Die regionale Verteilung der Betriebe geht aus Abbildung 4 hervor.

II. Technik der Isolierung

Die kranken Pflanzen wurden zuerst unter fließendem Wasser gereinigt und anschließend die zur Isolierung vorgesehenen Teile nach der von HELLMERS (1958) beschriebenen Methode mit 70%igem Alkohol unter Zusatz von 0,2 % 8-Oxychinolinsulfat und mit einer 0,2-prozentigen $HgCl_2$-Lösung äußerlich sterilisiert. Nachdem anfangs immer Wurzeln, Stengel und Blätter untersucht worden waren, wurden später nur noch Stengelstücke ausgelegt. Diese stammten vom Stengelgrund und aus mehreren jeweils etwa 10 cm voneinander entfernten höheren Stengelpartien. Die ungefähr 1 cm langen Stengelstückchen wurden in vier Seg-

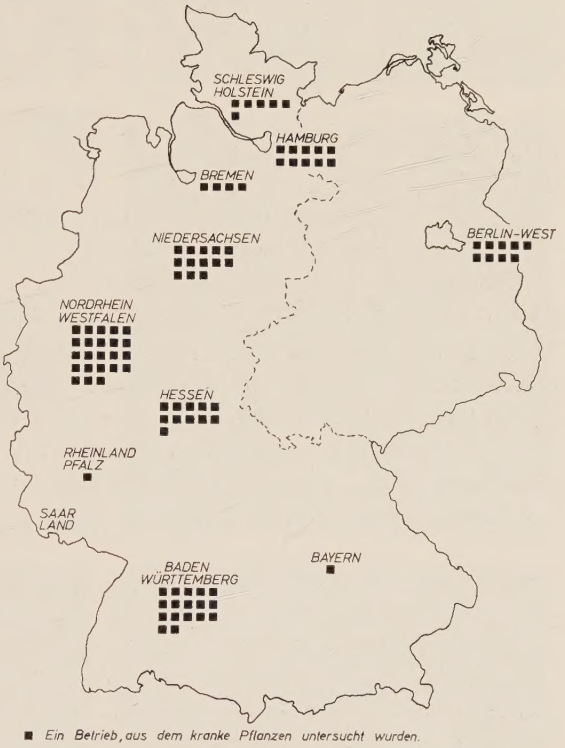


Abb. 4. Regionale Verteilung der Gartenbaubetriebe, aus denen kranke Nelken untersucht wurden

[1]) Die vorliegende Arbeit wurde im Institut für Mykologie und im Laboratorium für Zierpflanzenkrankheiten der Biologischen Bundesanstalt für Land- und Forstwirtschaft in Berlin-Dahlem durchgeführt. Für die vielfachen Anregungen und die stete Hilfsbereitschaft spreche ich meinen hochverehrten Lehrern, Herrn Prof. Dr. H. RICHTER, Herrn Prof. Dr. H. MÜLLER, Herrn Dr. W. GERLACH und Herrn Dr. W. SAUTHOFF, meinen besten Dank aus. Auch Herrn Prof. Dr. H. BORTELS sei an dieser Stelle für seine großzügige Hilfe und wertvollen Ratschläge gedankt. Für die Anfertigung der Abbildungen bin ich Herrn F. MAUL (Abb. 1), Pflanzenschutzamt Frankfurt, sowie für alle übrigen Herrn Dr. H. PETZOLD (Abb. 27, 29 und 33) und Herrn E. SCHÄLOW, beide Biologische Bundesanstalt für Land- und Forstwirtschaft, Berlin-Dahlem, zu besonderem Dank verpflichtet. Auch all denen, die bei der Beschaffung des Pflanzenmaterials behilflich waren, sei an dieser Stelle nochmals gedankt.

mente zerschnitten und auf Bierwürze- (Zusammensetzung siehe GERLACH 1954), Kartoffel-Dextrose- (Difco Nr. 0013) oder Nähr-Agar[1]) in Petrischalen gebracht. Diese standen anschließend vier bis zehn Tage lang im Brutschrank bei 26 °C. Kartoffel-Dextrose- und Nähr-Agar waren eigens für bakterielle Erreger als Nährmedien einbezogen worden; doch stellte sich während der Untersuchungen heraus, daß sowohl *Pectobacterium parthenii* v. *dianthicola* als auch *Pseudomonas caryophylli* auf Bierwürze-Agar ausgezeichnet wachsen.

Bei Isolationen vom Stengelgrund oder von wenig höher gelegenen Stengelpartien wurden die Gefäßparasiten oft von anderen Organismen überwachsen, selbst dann, wenn nur der Holzteil ausgelegt worden war. Ungefähr 20 bis 30 cm vom Wurzelhals entfernt wuchsen sie jedoch aus welkekranken Nelken fast immer ohne jede Verunreinigung heraus. Auf diese Weise wurden folgende Gefäßparasiten isoliert:

Phialophora cinerescens,
Fusarium oxysporum f. *dianthi,*
Fusarium redolens f. *dianthi,*
Rhizoctonia solani,
Pectobacterium parthenii v. *dianthicola* und
Pseudomonas caryophylli.

Im Verlauf der Isolierungsversuche zeigte sich, daß die einzelnen Welkeerreger recht unterschiedlich wachsen. Nach einiger Übung können diese Gefäßparasiten daher bereits nach wenigen Tagen an Form, Farbe und Größe ihrer Kolonien recht gut voneinander unterschieden werden. Dies dürfte in manchen Fällen schon sehr schnell Rückschlüsse auf das Vorliegen des einen oder des anderen Gefäßparasiten gestatten. Einen Überblick über die charakteristischen Wuchsbilder auf Bierwürze-Agar geben die Abbildungen 5 bis 10.

An Stengelgrundfäuleerregern wurden isoliert:

Fusarium avenaceum,
Fusarium culmorum und
Rhizoctonia solani,

denen der Literatur zufolge wohl die größte Bedeutung zukommt. Außerdem kamen an Pflanzen mit Merkmalen einer Stengelgrundfäule gelegentlich *F. acuminatum, F. solani, F. oxysporum, F. redolens, F. poae* (Pk.) Wr., *F. graminearum* Schwabe und *Phytophthora* spec. vor.

Alle isolierten Organismen wurden, nachdem über das KOCHsche Plattengußverfahren bzw. durch Ausstechen von Einzelhyphen (*Rhizoctonia solani*) Reinkulturen hergestellt worden waren, morphologisch eingehend studiert und bestimmt.

III. Häufigkeit der einzelnen Erreger

Die Ergebnisse der Isolierungsversuche zeigen, daß die im Ausland als Erreger von Welke- und Absterbeerscheinungen an Nelken nachgewiesenen Pilze und Bakterien, die vom Boden her angreifen, auch in Deutschland vor-

[1]) Nähr-Agar: 8 g Nutrient-Broth (Difco Nr. 0003), 20 g Agar und 1000 ml aqua dest. bei 121 °C 15 Minuten lang sterilisiert.

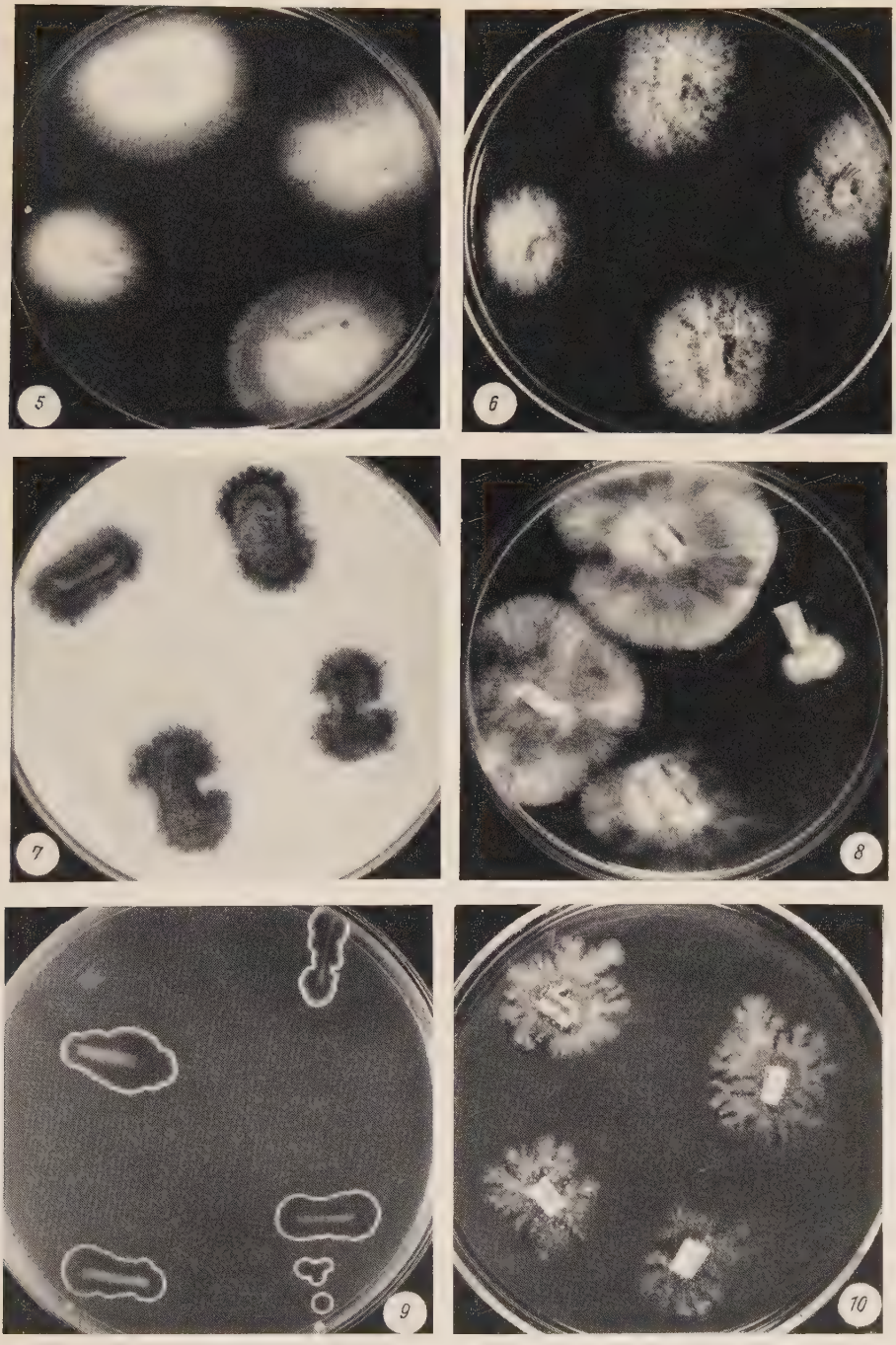


Abb. 5. *Fusarium oxysporum* f. *dianthi* nach 6 Tagen
Abb. 6. *Fusarium redolens* f. *dianthi* nach 6 Tagen
Abb. 7. *Phialophora cinerescens* nach 21 Tagen
. 8. *Rhizoctonia solani* nach 6 Tagen
Pseudomonas caryophylli nach 10 Tagen
Abb. 10. *obacterium parthenii* v. *dianthicola* nach 21 Tagen

kommen. In 65 der 95 Betriebe, aus denen kranke Pflanzen untersucht wurden, war das „Nelkensterben" auf Gefäßparasiten zurückzuführen. Nur in 30 Gärtnereien wurden die Verluste, die zudem vergleichsweise gering waren, durch Stengelgrundfäulen verursacht.

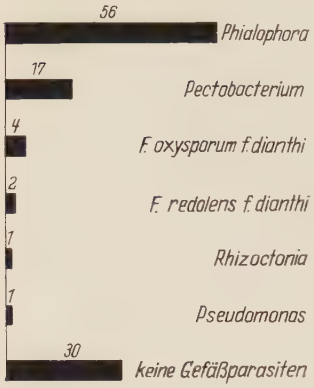


Abb. 11. Häufigkeit der am „Nelkensterben" beteiligten Erreger in den 95 Gärtnereien

Die Gefäßparasiten haben in Deutschland also die bei weitem größere Bedeutung. Deshalb wurden in dieser Arbeit nur die Tracheomykosen und Tracheobakteriosen und ihre Erreger im einzelnen untersucht, während die Stengelgrundfäulen einer späteren Bearbeitung überlassen bleiben müssen.

Die einzelnen Isolate, die im Verlauf dieser Untersuchungen von den sechs genannten Gefäßparasiten erhalten wurden, sind in Tabelle 1 aufgeführt.

Wie Tabelle 1 erkennen läßt, ist die Zahl der Isolate (81) größer als die der Betriebe (65), in denen Befall durch Gefäßparasiten vorlag. Dies ergibt sich daraus, daß in mehreren Gärtnereien zwei, in einer sogar drei Welkeerreger nebeneinander nachgewiesen wurden, und zwar:

Phialophora und *Pectobacterium* in neun Betrieben,
Phialophora und *F. oxysporum* f. *dianthi* in vier Betrieben,
F. redolens f. *dianthi* und *Pectobacterium* in einem Betrieb,
Phialophora, Rhizoctonia und *Pectobacterium* in einem Betrieb.

In keinem Fall waren jedoch zwei Welkeerreger in ein und derselben Pflanze festzustellen.

Die Häufigkeit der einzelnen Gefäßparasiten gibt Abbildung 11 wieder.

Danach ist in Deutschland *Phialophora cinerescens* bei weitem am häufigsten, *Pectobacterium parthenii* v. *dianthicola* nicht selten; *Fusarium oxysporum* f. *dianthi*, *Fusarium redolens* f. *dianthi*, *Rhizoctonia solani* und *Pseudomonas caryophylli* kommen dagegen nur gelegentlich vor.

C. DIE EINZELNEN WELKEKRANKHEITEN UND IHRE ERREGER

I. Tracheomykosen

a) Die *Phialophora*-Welkekrankheit

1. Der Erreger

Phialophora cinerescens (Wr.) van Beyma

Morphologie und Verhalten in Kultur

Phialophora cinerescens wurde in 56 Gärtnereien West-Deutschlands und Berlins festgestellt. Alle isolierten *Phialophora*-Stämme wuchsen sehr langsam

Tabelle 1
Die Isolate der Gefäßparasiten und ihre Herkunft

Gefäßparasit	Stamm Nr.	Land	Nelkenart	Datum der Isolierung
1. *Phialophora cinerescens*	9463	Nordrhein-Westfalen	Edelnelke	2. 7. 1958
	9464	Berlin	Edelnelke	13. 11. 1958
	9465	Hamburg	Edelnelke	29. 11. 1958
	9466	Berlin	Edelnelke	23. 7. 1958
	9467	Berlin	Edelnelke	23. 7. 1958
	9468	Berlin	Edelnelke	4. 8. 1958
	9469	Nordrhein-Westfalen	Edelnelke	18. 10. 1958
	9470	Niedersachsen	Edelnelke	14. 10. 1958
	9471	Niedersachsen	Edelnelke	15. 10. 1958
	9472	Hamburg	Edelnelke	3. 12. 1958
	9473	Hamburg	Edelnelke	5. 12. 1958
	9474	Hamburg	Edelnelke	5. 12. 1958
	9475	Hamburg	Edelnelke	6. 12. 1958
	9476	Nordrhein-Westfalen	Edelnelke	5. 2. 1959
	9477	Nordrhein-Westfalen	Edelnelke	6. 2. 1959
	9478	Nordrhein-Westfalen	Edelnelke	7. 2. 1959
	9479	Nordrhein-Westfalen	Edelnelke	7. 2. 1959
	9480	Baden-Württemberg	Edelnelke	3. 4. 1959
	9481	Baden-Württemberg	Edelnelke	6. 4. 1959
	9482	Bayern	Edelnelke	15. 4. 1959
	9483	Berlin	Remontant-Nelke	12. 9. 1959
	9484	Niedersachsen	Edelnelke	11. 3. 1960
	9485	Baden-Württemberg	Edelnelke	24. 3. 1959
	9486	Baden-Württemberg	Edelnelke	24. 3. 1959
	9487	Baden-Württemberg	Edelnelke	25. 3. 1959
	9488	Baden-Württemberg	Edelnelke	26. 3. 1959
	9489	Baden-Württemberg	Edelnelke	28. 3. 1959
	9490	Baden-Württemberg	Edelnelke	28. 3. 1959
	9491	Baden-Württemberg	Edelnelke	28. 3. 1959
	9492	Baden-Württemberg	Edelnelke	1. 4. 1959
	9493	Baden-Württemberg	Edelnelke	2. 4. 1959
	9494	Baden-Württemberg	Edelnelke	2. 4. 1959
	9495	Baden-Württemberg	Edelnelke	3. 4. 1959
	9496	Baden-Württemberg	Edelnelke	4. 4. 1959
	9497	Hessen	Edelnelke	5. 5. 1959
	9498	Hessen	Edelnelke	5. 5. 1959
	9499	Hessen	Edelnelke	6. 5. 1959
	9500	Hessen	Edelnelke	7. 5. 1959
	9501	Hessen	Edelnelke	9. 5. 1959
	9502	Hessen	Edelnelke	12. 5. 1959
	9503	Hessen	Edelnelke	12. 5. 1959
	9504	Bremen	Edelnelke	18. 6. 1959
	9505	Schleswig-Holstein	Edelnelke	1. 7. 1959
	9506	Bremen	Edelnelke	1. 7. 1959

Tabelle 1 (Fortsetzung)

Gefäßparasit	Stamm Nr.	Land	Nelkenart	Datum der Isolierung
	9507	Schleswig-Holstein	Edelnelke	25. 6. 1959
	9508	Nordrhein-Westfalen	Edelnelke	6. 7. 1959
	9509	Nordrhein-Westfalen	Edelnelke	25. 8. 1959
	9510	Nordrhein-Westfalen	Edelnelke	25. 8. 1959
	9511	Schleswig-Holstein	Edelnelke	1. 9. 1959
	9512	Berlin	Edelnelke	8. 9. 1959
	9513	Nordrhein-Westfalen	Edelnelke	8. 9. 1959
	9514	Nordrhein-Westfalen	Edelnelke	8. 9. 1959
	9515	Nordrhein-Westfalen	Edelnelke	10. 11. 1959
	9516	Nordrhein-Westfalen	Edelnelke	25. 11. 1959
	9517	Berlin	Remontant-Nelke	16. 6. 1960
	9518	Hessen	Edelnelke	21. 9. 1960
2. *Fusarium oxysporum* f. *dianthi*	9519	Berlin	Remontant-Nelke	5. 8. 1958
	9520	Berlin	Remontant-Nelke	12. 9. 1959
	9521	Hessen	Edelnelke	5. 5. 1959
	9522	Hessen	Edelnelke	5. 5. 1959
	9523	Berlin	Edelnelke	8. 10. 1959
	9524	Berlin	Edelnelke	8. 10. 1959
	9560	Berlin	Edelnelke	17. 1. 1961
3. *Fusarium redolens* f. *dianthi*	9525	Hamburg	Edelnelke	2. 12. 1958
	9526	Berlin	Edelnelke	16. 5. 1959
	9527	Berlin	Edelnelke	8. 9. 1959
4. *Rhizoctonia solani*	9528	Baden-Württemberg	Edelnelke	6. 4. 1959
	9529	Baden-Württemberg	Edelnelke	6. 4. 1959
5. *Pectobacterium parthenii* v. *dianthicola*	B 1	Hamburg	Edelnelke	2. 12. 1958
	B 2	Berlin	Edelnelke	17. 9. 1958
	B 3	Niedersachsen	Edelnelke	13. 10. 1958
	B 4	Baden-Württemberg	Edelnelke	24. 3. 1959
	B 5	Baden-Württemberg	Edelnelke	24. 3. 1959
	B 6	Baden-Württemberg	Edelnelke	25. 3. 1959
	B 7	Baden-Württemberg	Edelnelke	26. 3. 1959
	B 8	Baden-Württemberg	Edelnelke	27. 3. 1959
	B 9	Baden-Württemberg	Edelnelke	28. 3. 1959
	B 10	Baden-Württemberg	Edelnelke	2. 4. 1959
	B 11	Baden-Württemberg	Edelnelke	6. 4. 1959
	B 12	Baden-Württemberg	Edelnelke	6. 4. 1959
	B 13	Hessen	Edelnelke	6. 5. 1959
	B 14	Nordrhein-Westfalen	Edelnelke	25. 8. 1959
	B 15	Nordrhein-Westfalen	Edelnelke	25. 8. 1959
	B 16	Nordrhein-Westfalen	Edelnelke	10. 11. 1959
	B 17	Nordrhein-Westfalen	Edelnelke	21. 11. 1959
6. *Pseudomonas caryophylli*	B 18	Nordrhein-Westfalen	Edelnelke	8. 9. 1959

und bedeckten innerhalb von drei Wochen höchstens eine Fläche von 2 cm im Durchmesser. Dicht unter dem Myzel färbten sich Bierwürze- und Möhrendekokt-Agar leicht milchigweiß. Da alle Herkünfte in ihrem Aussehen bei der Isolierung (Abb. 7) keine nennenswerten Unterschiede zeigten, wurden zehn Stämme (9463 bis 9472) herausgegriffen und eingehend untersucht. Diese wurden auf Bierwürze-, Hafermehl- und Möhrendekokt-Agar sowie auf Gerstenähre und Luzernestengel (Zusammensetzung der Nährböden siehe GERLACH 1954) in Reagenzröhrchen kultiviert. Da keine Unterschiede zwischen den Stämmen zu erkennen waren, treffen für sie alle die folgenden Angaben zu:

Myzel

entwickelt sich auf allen Substraten, am stärksten auf den Agar-Medien. Es ist anfangs weiß und hat oft ein struppiges, fast borstenartiges Aussehen. Mit zunehmendem Alter wird es dunkelgrau, gelegentlich aschbraun, mehr watteartig-flauschig und bis 5 mm hoch. Myzel, das dem Substrat anliegt, färbt sich meistens graugrünschwarz, seltener aschbraun und kann von diesem wie eine Haut abgezogen werden. Besonders auf Gerstenähre und Luzernestengel können die Hyphen dicker sein als auf den anderen Substraten.

Konidien

sind immer einzellig und von zylindrischer, ellipsoider oder ovaler Form. In der Regel enthalten sie an den beiden Polen je ein Öltröpfchen. Die zunächst hyalinen Konidien werden mit der Zeit rauchfarben. Sie entstehen an den Spitzen länglicher, meist flaschenförmiger Phialiden, die sehr häufig durch verlängerte Phialidenwände tassenartige Vertiefungen aufweisen. Die Phialiden

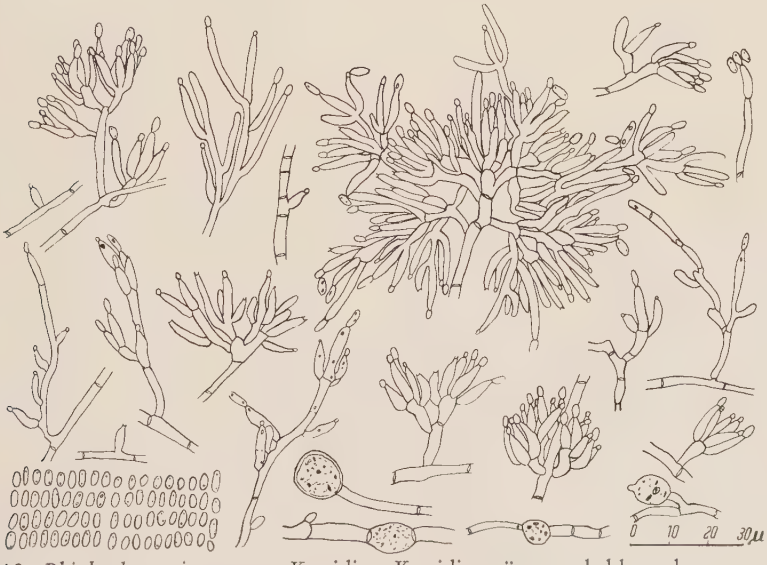


Abb. 12. *Phialophora cinerescens*; Konidien, Konidienträger und chlamydosporenartige Anschwellungen im Myzel (500 : 1)

können besonders anfangs einzeln entstehen, sowohl seitlich als auch an den Enden von Hyphen (Abb. 12). Im allgemeinen befinden sie sich aber in Gruppen von drei bis acht Stück an Ästen der Hyphen, und mehrere von ihnen bilden dann büschelige Konidienträger. Die einzeln abgeschnürten Konidien kleben meistens zusammen und sammeln sich auf den buschigen Konidiophoren in falschen Köpfchen. Diese färben sich mit der Zeit dunkelgrau und werden oft so groß, daß sie makroskopisch sichtbar sind.

Um einen zuverlässigen Durchschnittswert von der Größe der Konidien zu erhalten, wurden 1500 Konidien der zehn untersuchten Stämme von ein bis drei Wochen alten Kulturen auf fünf verschiedenen Substraten gemessen und ein Teil davon gezeichnet. Die Durchschnittswerte von Proben zu je 30 Konidien schwankten bei allen *Phialophora*-Herkünften etwa gleich stark. In Tabelle 2 sind die Ergebnisse der Messungen von den fünf Nährmedien zusammengestellt.

Tabelle 2

Phialophora cinerescens

Größe der Konidien von zehn Stämmen auf fünf Substraten (in Mikron)

Substrate	Zahl der gemess. Konidien	Durchschnitt	Absolute Schwankung	Schwankungsbereich der Durchschnittswerte von 10 Proben zu je 30 Konidien
Bierwürze-Agar	300	4,2 × 2,0	2,2—6,1 × 1,0—3,0	3,9—4,5 × 1,8—2,2
Hafermehl-Agar	300	4,0 × 2,0	2,2—7,0 × 1,0—3,0	3,5—4,5 × 1,8—2,3
Möhrendekokt-Agar	300	4,0 × 1,9	1,9—7,0 × 1,1—2,9	3,7—4,5 × 1,8—2,0
Gerstenähre	300	3,8 × 1,9	2,2—6,0 × 1,0—2,5	3,5—4,1 × 1,6—1,9
Luzernestengel	300	3,9 × 1,9	2,3—6,1 × 1,0—3,0	3,5—4,2 × 1,8—2,0
	1500	4,0 × 1,9	1,9—7,0 × 1,0—3,0	

Für die 1500 gemessenen Konidien ergibt sich also ein Durchschnittswert von 4,0 × 1,9 μ, die Extreme liegen zwischen 1,9 bis 7,0 × 1,0 bis 3,0 μ. Diese Befunde stimmen mit denen von WOLLENWEBER (1929), WICKENS (1935) und MOREAU (1957) überein.

Konidienmessungen, die von allen anderen Stämmen sowie Reisolierungen vorgenommen wurden — darunter befanden sich auch Konidienproben von Reisbrei und Nelkenstengel —, zeigten keine Abweichungen von diesen Werten, auch nicht bei den Stämmen 9483 und 9517, die von kranken Remontant-Nelken aus dem Freiland isoliert wurden.

Chlamydosporen-

artige Hyphenanschwellungen, die sowohl terminal als auch interkalar angelegt waren, konnten auf allen Substraten beobachtet werden (Abb. 12).

Systematische Stellung des Erregers

In der angelsächsischen Literatur findet man für diesen Welkeerreger häufig noch die Bezeichnung *Verticillium cinerescens* (Wollenweber 1929), obwohl van Beyma bereits 1940 diesen Pilz in die Gattung *Phialophora* (Medi ar 1915) gestellt hat. Das Vorgehen von van Beyma erscheint berechtigt, wenn man *Ph. cinerescens* mit anderen *Phialophora*-Arten, wie z. B. *Ph. verrucosa* Medlar (1915) — der Typusart — oder *Ph. malorum* (Kidd et Beaumont) McColloch (1944), vergleicht. Auch Wollenweber (1929) hatte in der Diagnose darauf hingewiesen, daß es sich bei diesem Pilz um keinen typischen Vertreter der Gattung *Verticillium* handelt. *Ph. cinerescens* nimmt zwar als spezialisierter Gefäßparasit eine Sonderstellung in dieser Gattung ein und läßt durch dieses Verhalten gewisse Parallelen zu *Verticillium albo-atrum* Reinke et Berth. erkennen, ist aber auf Grund seiner morphologischen Merkmale — wie auch die hiesigen Untersuchungen bestätigten — zweifellos zur Zeit am besten in der Gattung *Phialophora* eingeordnet.

Pathogenität

Phialophora cinerescens war in 60 % der Nelkenbetriebe nachzuweisen, aus denen kranke Pflanzen untersucht wurden. 22 der insgesamt 56 isolierten *Phialophora*-Stämme wurden im Infektionsversuch an *Dianthus caryophyllus* auf ihre Pathogenität geprüft. Mit diesen *Phialophora*-Herkünften wurde ein Torf-Häcksel-Sand-Gemisch (Zusammensetzung bei Gerlach 1954) in Erlenmeyerkolben beimpft. Nach drei Wochen war das Substrat vom Pilz gut durchwachsen. Es wurde dann im Verhältnis 1 : 4 mit gedämpfter Erde (Zusammensetzung: ein Drittel Torfmull, ein Drittel Kompost- und ein Drittel Misterde) gemischt. Als Versuchspflanzen dienten gleichmäßig kräftig entwickelte, drei Monate alte Edelnelken der Sorte „Clear Yellow Sim" bzw. Remontant-Nelken der Sorte „Namenlos". Die Anzucht der Nelken erfolgte in gedämpfter Erde in 7-cm-Töpfen.

Am 27. April 1960 wurden je zehn Edelnelken mit den 22 *Phialophora*-Herkünften 9463 bis 9484 und zehn Remontant-Nelken außerdem mit dem Stamm 9483 infiziert. Es wurde jeweils etwa ein Drittel des Erdballens vorsichtig entfernt; anschließend wurden die Nelken in das oben beschriebene verseuchte Erdgemisch in 10-cm-Töpfe verpflanzt. Das bei den Kontrollpflanzen (20 Edel- und 10 Remontant-Nelken) der Erde zugegebene Torf-Häcksel-Sand-Gemisch war nicht beimpft worden. Die Nelken standen im Gewächshaus bei Temperaturen zwischen 15 und 20 °C, die zeitweise auf 11 °C abfielen bzw. auf 32 °C anstiegen. Die relative Luftfeuchtigkeit schwankte zwischen 50 und 100 %. Der Versuch wurde am 5. September 1960 abschließend bonitiert.

Die ersten Symptome waren 25 Tage nach Beginn des Versuches zu erkennen. Nach vier Monaten waren von den zehn infizierten Pflanzen in jeder der 23 Parzellen wenigstens acht, in mehr als der Hälfte der Parzellen alle zehn Nelken sichtbar krank oder bereits abgestorben. Auch die 13 der insgesamt 220 infizierten Edelnelken, die am Schluß des Versuches noch gesund aussahen, hatten gebräunte Gefäße. Aus diesen konnte der Erreger immer reisioliert werden.

Unter diesen Versuchsbedingungen verlief die Krankheit an den Remontant-Nelken besonders schnell. Diese waren nämlich alle schon nach sechs Wochen verwelkt. Die Kontrollpflanzen blieben ausnahmslos gesund und entwickelten sich während des Versuches kräftig weiter.

In anderen ähnlich angelegten Versuchen, bei denen aber eine annähernd gleichbleibende Temperatur von etwa 22 °C eingehalten werden konnte, verlief die Krankheit viel schneller. Ob 22 °C die optimale Temperatur für Infektionsversuche ist, bleibt noch zu klären. Nach WICKENS (1935) und MOREAU (1957) liegt das Temperaturoptimum für das Myzelwachstum in vitro bei etwa 20 °C.

In weiteren Versuchen erwiesen sich auch die Sorten „William Sim", „Salmon Sim", „Pink Sim", „Red Sim", „White Sim" und „Lucky Strike" als anfällig. RODENBURG (1945) fand keine gegen diesen Erreger resistente Nelkensorte.

Da zwei der *Phialophora*-Stämme aus kranken Freilandnelken isoliert wurden, war zu prüfen, inwieweit dieser Welkeerreger auch andere, normalerweise nicht unter Glas kultivierte Nelken zu befallen vermag. Es wurde deshalb am 7. Juli 1959 mit den Stämmen 9480 bis 9482 ein Infektionsversuch an je zehn Chabaud-, Land- und Edelnelken — alle gehören zu *D. caryophyllus* — sowie zehn Bartnelken, *D. barbatus*, und zehn Federnelken, *D. plumarius*, angesetzt. Die Versuchspflanzen wurden in verseuchtes Substrat verpflanzt (siehe oben), und zwar in 11- bzw. 8-cm-Töpfe, und im Gewächshaus bei Temperaturen zwischen 10 und 36 °C gehalten. Die relative Luftfeuchtigkeit schwankte zwischen 45 und 100 %. Nach vier Wochen waren die ersten Symptome festzustellen. Am 29. November 1959 wurde der Versuch abgeschlossen, das Ergebnis ist aus Tabelle 3 zu entnehmen.

Tabelle 3

Phialophora cinerescens

Ergebnisse eines Infektionsversuches an Freiland-Nelken

Wirtspflanze	Pflanzenzahl	Welkekranke Pflanzen			
		Stamm 9480	Stamm 9481	Stamm 9482	Kontrolle
Bartnelke (*D. barbatus*)	10	9	9	8	0
Federnelke (*D. plumarius*)	10	8	8	9	0
Chabaudnelke (*D. caryophyllus*) .	10	10	10	10	0
Landnelke (*D. caryophyllus*)	10	2 (4)*	3 (3)*	6 (1)*	0
Edelnelke (*D. caryophyllus*)	10	8	9	9	0

* Die in Klammern genannte Zahl = äußerlich gesund aussehende Pflanzen, aus deren gebräunten Gefäßpartien der Erreger aber reisoliert werden konnte.

Demnach sind alle in diesem Versuch geprüften Nelken für *Ph. cinerescens* geeignete Wirte. Allerdings scheint die Landnelke etwas weniger anfällig zu sein als die übrigen. Nach WILLIAM et al. (1940) sollen *D. chinensis* und *D. barbatus* sehr anfällig sein, während diesen Autoren bei *D. caesius* Infektionen nur am

Stengelgrund, nicht aber an den Wurzeln gelangen. *D. deltoides* erwies sich in ihren Versuchen als widerstandsfähig.

Alle in den Infektionsversuchen erkrankten Nelken wurden sorgfältig untersucht. Die an Edel- und Remontant-Nelken aufgetretenen Symptome glichen denen natürlich infizierter Pflanzen. Der Erreger konnte in allen Fällen aus Wurzeln, Stengeln und Blättern reisoliert werden. Die 22 geprüften *Phialophora*-Herkünfte ließen nennenswerte Unterschiede in ihrer Pathogenität nicht erkennen.

2. Symptome und Verlauf der Krankheit

Die ersten äußeren Symptome zeigen sich in der Regel annähernd gleichzeitig an mehreren, und zwar etwa 10 bis 20 cm hoch sitzenden Blättern. An diesen entstehen anfangs diffuse Flecke, die je nach Jahreszeit und Sorte unterschiedlich gefärbt sind. Während der Wintermonate sehen sie meistens fahl graugrün aus. Zu anderen Jahreszeiten dagegen sind sie bei rosa-, rot- und weißblühenden Sorten auffallend rötlichviolett bis bläulich gefärbt. Bei gelben Sorten fehlen diese Farbtöne jedoch; hier sind diese Blattpartien etwa bernsteinfarbig. Später werden diese Flecke, die dann auch an den oberen Blättern auftreten, meistens nekrotisch. Sie können einmal vom Blattgrund ausgehen und sich einige Zentimeter an den Rändern entlangziehen (Abb. 13, rechts). Wenn sie dabei, zur Mitte hin übergreifend, ineinander übergehen, so knickt die Spreite an diesen Stellen ab und verwelkt. In anderen Fällen entstehen diese oder auch anders geformte Flecke nicht am Blattgrund, sondern in einiger Entfernung davon an den Rändern (Abb. 13, Mitte), in der Mitte oder an der Spitze der Blätter. Häufig können aber auch vom Blattgrund ausgehende und an beliebigen Stellen der Spreite entstehende Flecke an ein und demselben Blatt beobachtet werden. Im weiteren Verlauf der Krankheit färben sich auch diejenigen Blätter, die bis dahin noch keine Symptome zeigten, verhältnismäßig schnell fahlgrün. Schließlich welkt das ganze Laub, die Pflanze stirbt ab, verdorrt und wird strohfarben (Abb. 1).

Abb. 13. *Phialophora cinerescens;* Nelkenblätter mit typischen Anfangssymptomen, links gesundes Blatt

Im Innern der kranken Pflanzen sind die Gefäßpartien farblich verändert. Auf Querschnitten durch den Stengel erkennt man unterschiedlich große, zunächst punktartige, später den ganzen Gefäßbündelring erfassende Verbräunungen (Abb. 14). Diese greifen allmählich auch auf die angrenzenden Gewebepartien über und können dann sogar äußerlich als

dunkle Längsstriche sichtbar sein. Bei Nelken in nicht zu weit fortgeschrittenen Krankheitsstadien sind höhere Stengelpartien in der Regel stärker verbräunt als der Stengelgrund, doch kann das Ausmaß des gebräunten Gewebes von einer gewissen Höhe an auch wieder abnehmen. Sobald jedoch alle oberirdischen Pflanzenteile welken, ist der Gefäßbündelring am Stengelgrund völlig gebräunt.

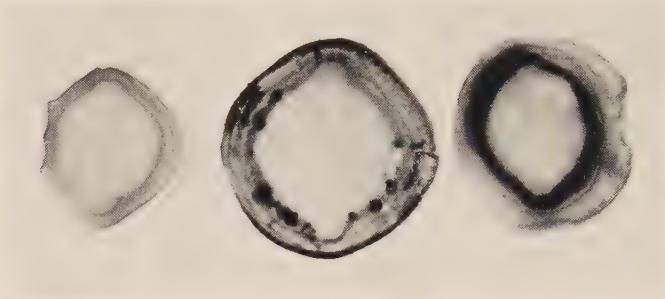


Abb. 14. *Phialophora cinerescens;* Querschnitte durch Nelkenstengel mit Gefäßverbräunungen, links durch gesunden Stengel (vergrößert)

In frühen Krankheitsstadien treiben die Nelken an der Basis oft noch kräftig aus. Bleibt der Befall im Stengel lange Zeit einseitig, so wachsen die Triebspitzen gelegentlich annähernd horizontal weiter, wie es bei den *Fusarium*-Welkekrankheiten häufiger vorkommt (vgl. Abb. 16).

Das Wurzelwerk kranker Pflanzen sieht im ganzen verhältnismäßig lange Zeit gesund aus. Bei näherer Untersuchung findet man jedoch regelmäßig einzelne gebräunte und faulende Wurzeln, über die der Erreger eingedrungen ist (Abb. 2). Je weiter die Krankheit fortschreitet, um so mehr Wurzeln gehen in Fäulnis über, bis schließlich das gesamte Wurzelwerk abgestorben ist.

In einigen ergänzenden Versuchen wurde der Frage nachgegangen, wie die oben beschriebenen Flecke an den Blättern, die regelmäßig als Anfangssymptome der *Phialophora*-Welkekrankheit auftreten, entstehen. Es gelang, den Erreger bereits bei Beginn der Fleckenbildung aus den verfärbten Blatteilen zu isolieren. Eine Fernwirkung von Toxinen dürfte daher als Erklärung nicht in Betracht kommen. Da der Pilz zwar immer in den Flecken nachzuweisen war, häufig aber nicht in dem tiefer liegenden Blattgrund, wenn dieser noch gesund aussah (siehe oben und Abb. 13, Mitte), bestand der Verdacht, daß es sich um aerogene *Phialophora*-Infektionen handelte. Diese Deutungsmöglichkeit konnte jedoch ebenfalls ausgeschlossen werden, weil einmal an den Kontrollpflanzen in den Infektionsversuchen niemals derartige Flecke auftraten, und es zum anderen in Versuchen nicht gelang, durch Übersprühen von Nelken mit Konidiensuspensionen des Erregers aerogene Infektionen zu erzeugen. Die Entstehung solcher isoliert gelegenen Flecke könnte daher wohl am ehesten durch die Annahme erklärt werden, daß *Phialophora cinerescens* im Inneren der Pflanze fruktifiziert und Konidien mit dem Transpirationsstrom verhältnismäßig

schnell in höher gelegene Teile des Sprosses transportiert werden, wo sich dann Sekundärherde bilden. Allerdings gelang der mikroskopische Nachweis von Konidien in kranken Nelken bisher nicht.

b) Die *Fusarium*-Welkekrankheiten

1. Die Erreger

Fusarium oxysporum Schl. f. *dianthi* (Prill. et. Del.) Snyder et Hansen
Fusarium redolens Wr. f. *dianthi* Gerlach

Neben *F. oxysporum* f. *dianthi*, das als *F. dianthi* schon seit Ende des 19. Jahrhunderts bekannt ist, wurde erst vor kurzem ein weiteres *Fusarium* der Sektion *Elegans*, nämlich *F. redolens* f. *dianthi*, als Erreger einer Welkekrankheit an Edelnelken nachgewiesen. Im folgenden Abschnitt „Morphologie und Verhalten in Kultur" werden die beiden Pilze getrennt, in allen weiteren Abschnitten gemeinsam besprochen.

Morphologie und Verhalten in Kultur

Fusarium oxysporum f. *dianthi*

Insgesamt lagen sieben Isolate von diesem *Fusarium* vor (9519 bis 9524 und 9560), die aus vier Betrieben stammten und zur gleichen Zeit oder in zwei aufeinander folgenden Jahren aus verschiedenen kranken Pflanzen isoliert worden waren. Sie wurden wie *Phialophora cinerescens* in Reagenzröhrchen auf einer Serie von Substraten (Bierwürze-, Möhrendekokt-, Hafermehl-Agar sowie Gerstenähre, Luzernestengel und Reisbrei) kultiviert. Die Kulturen standen bei Zimmertemperatur und Tageslicht, ohne der Sonne direkt ausgesetzt zu sein. Alle Stämme wurden im Zustand der „Hochkultur" untersucht, da Fusarien erfahrungsgemäß nur in diesem Zustand die taxonomisch wichtigen Merkmale typisch ausprägen (Appel und Wollenweber 1910, Gerlach 1954, Schneider 1958a, Gerlach et al. 1958). Die sieben *Fusarium*-Stämme waren morphologisch, und zwar sowohl makroskopisch als auch mikroskopisch, völlig einheitlich, so daß die folgenden Merkmale für sie allgemein zutreffen:

Myzel

wird auf allen Substraten üppig gebildet. Es wird bis zu 1 cm hoch, wächst locker watteartig und ist erst weiß, später oft leicht rosa gefärbt.

Konidienlager

entstehen auf sklerotialem Stroma als Sporodochien, die seltener schleimig zerfließen. Sie sind kräftig rosa-, lachs- oder orangefarben und von tropfen- oder blumenkohlartiger Form. Die 1 bis 4 mm groß werdenden Sporodochien entwickeln sich auf Hafermehl-Agar besonders reichlich. Auf Bierwürze-Agar, Luzernestengel und Gerstenähre kommen sie seltener, auf Möhrendekokt-Agar nur ausnahmsweise vor. Auf Reisbrei fehlen sie ganz.

Konidien

sind einzellig (Mikrokonidien) oder mehrzellig (Makrokonidien). Mikrokonidien entstehen hauptsächlich im Luftmyzel und sammeln sich in falschen Köpfchen. Sie sind ellipsoid oder länglich. Makrokonidien entwickeln sich besonders zahlreich in den Sporodochien, und zwar an den Enden büschelig verzweigter Konidienträger (Abb. 15, links). Im allgemeinen sind die Makrokonidien nur leicht sichelförmig gebogen. Die Fußzellen sind deutlich ausgeprägt, und die Scheitelzellen enden mit einer vorn etwas abgeplatteten Spitze, die gelegentlich auch etwas stärker gekrümmt ist (Abb. 15, links).

Um einen möglichst zuverlässigen Durchschnittswert für die Sporengröße dieses Pilzes zu erhalten, wurden insgesamt 9030 Sporen, und zwar 1050 Mikro- und 7980 Makrokonidien, von allen sieben Stämmen und je einer Reisolierung gemessen und zum Teil gezeichnet. Die Zahl der gemessenen Konidien betrug für jeden Stamm von Hafermehl-Agar, Gerstenähre und Luzernestengel 50 0-septierte, 20 1-septierte, 10 2-septierte, 200 3-septierte, 100 4-septierte und 50 5-septierte Sporen. Die Proben von Makrokonidien stammten alle aus Sporodochien von drei bis zehn Wochen alten Kulturen, in denen die Konidien noch nicht zur Chlamydosporenbildung übergegangen waren. Die ermittelten Konidienwerte sind in Tabelle 4 zusammengestellt.

Tabelle 4

Fusarium oxysporum f. *dianthi*
Größe der Konidien aller Stämme aus Sporodochien (in Mikron)

Septenzahl	Zahl der gemessenen Konidien	Durchschnitt		Absolute Schwankung	
		Länge	Dicke	Länge	Dicke
0	1050	8 × 2,5		4—16 × 1,5—4,0	
1	420	15 × 3,0		9—29 × 2,4—4,9	
2	210	24 × 3,7		16—37 × 2,6—5,2	
3	4200	35 × 4,6		20—56 × 2,8—6,0	
4	2100	39 × 4,6		24—55 × 3,4—5,9	
5	1050	42 × 4,6		28—58 × 3,2—5,8	

Tabelle 5

Fusarium oxysporum f. *dianthi*
Schwankungen der Durchschnittswerte der Konidienproben (in Mikron)

Septenzahl	Anzahl der Konidien-proben	Zahl der gemessenen Konidien je Probe	Länge	Dicke
0	20	50	7— 9 × 2,3—2,8	
3	40	100	31—41 × 4,3—4,8	
4	20	100	36—44 × 4,4—4,8	
5	20	50	40—48 × 4,4—4,9	

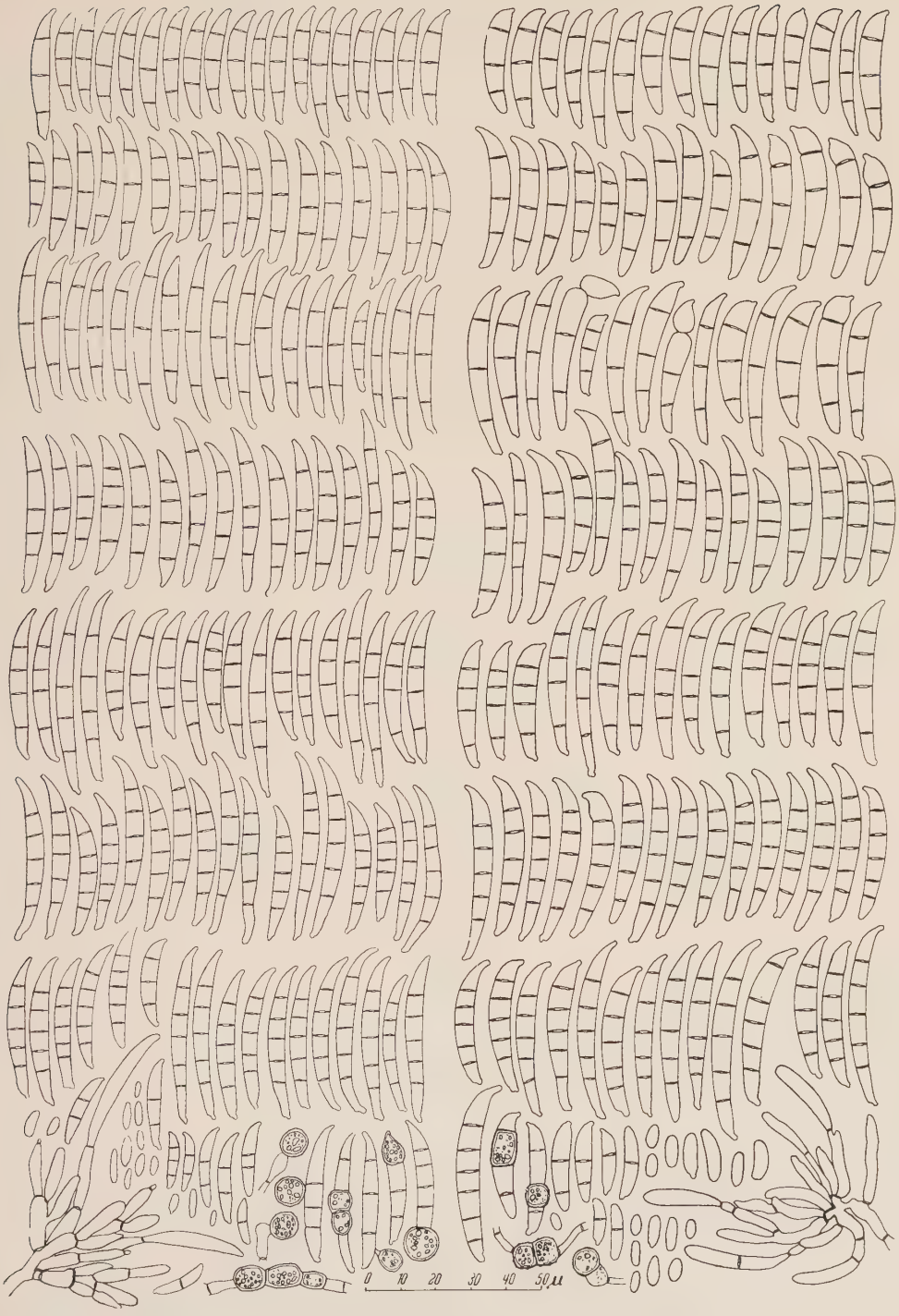


Abb. 15. *Fusarium oxysporum* f. *dianthi* (links) und *Fusarium redolens* f. *dianthi* (rechts); Konidien, Konidienträger und Chlamydosporen (500 : 1)

Beachtliche Unterschiede traten zwischen den Durchschnittswerten der einzelnen Konidienproben auf (Tab. 5), doch waren diese bei allen sieben Stämmen etwa gleich groß.

Die verschiedenen Substrate hatten keinen nennenswerten Einfluß auf die Länge und Dicke der Konidien (Tab. 6).

Tabelle 6

Fusarium oxysporum f. *dianthi*

Durchschnittliche Größe der Konidien von drei verschiedenen Substraten (in Mikron)

Septenzahl	Zahl der gemessenen Konidien	Substrat		
		Gerstenähre	Hafermehl-Agar	Luzernestengel
3	1200	35 × 4,5	36 × 4,6	34 × 4,5
4	600	39 × 4,6	41 × 4,6	39 × 4,6
5	300	41 × 4,5	44 × 4,7	42 × 4,6

Die Septierungsverhältnisse waren in den einzelnen Konidienproben recht unterschiedlich. 3-septierte Makrokonidien überwogen immer, 4-septierte kamen häufiger, 5-septierte nur gelegentlich vor. Über die Häufigkeit der einzelnen Septaten gibt Tabelle 7 Aufschluß. Die Werte beruhen auf 90 ausgezählten Proben aller Stämme zu je 100 Konidien.

Tabelle 7

Fusarium oxysporum f. *dianthi*

Häufigkeit der einzelnen Septaten

Septenzahl	Durchschnittlicher Anteil %	Absolute Schwankung %
0	2	0—23
1	1	0— 7
2	1	0— 6
3	81	54—98
4	13	1—31
5	2	0— 9

Zum Vergleich mit den an Konidien aus Sporodochien ermittelten Werten wurden auch Makrokonidien aus dem Luftmyzel studiert. Sie waren fast ausnahmslos 3-septiert. Die Größen 3-septierter Konidien von zwei Proben sind in Tabelle 8 zusammengestellt.

Demnach waren Makrokonidien aus dem Luftmyzel deutlich schlanker und etwas kürzer als die aus Sporodochien.

Tabelle 8

Fusarium oxysporum f. *dianthi*
Größe 3-septierter Konidien aus dem Luftmyzel (in Mikron)

Substrat	Septenzahl	Zahl der gemessenen Konidien	Durchschnitt		Absolute Schwankung	
			Länge	Dicke	Länge	Dicke
Gerstenähre	3	100	31 × 4,2		19—39 × 3,1—4,9	
Luzernestengel	3	100	30 × 4,0		21—39 × 3,2—4,8	

Chlamydosporen

entstehen terminal und interkalar im Myzel sowie in den Konidien. Sie sind meistens ein-, selten zweizellig. Kettenartige Verbände kommen gelegentlich vor. Die Chlamydosporen sind rund bis oval, glatt oder rauh.

Es wurden insgesamt 300 ein- und 300 zweizellige Chlamydosporen aller Stämme aus dem Myzel, und zwar von Hafermehl-Agar, Gerstenähre und Luzernestengel, gemessen, außerdem 300 einzellige Chlamydosporen in Makrokonidien von älteren Hafermehl-Agar-Kulturen. Die ermittelten Werte gibt Tabelle 9 wieder.

Tabelle 9

Fusarium oxysporum f. *dianthi*
Größe der Chlamydosporen (in Mikron)

Art und Zahl der gemessenen Chlamydosporen		Durchschnitt		Absolute Schwankung	
		Länge	Dicke	Länge	Dicke
einzellig Myzel	300	8 × 7		5—13 × 4—10	
zweizellig Myzel	300	13 × 8		9—19 × 4—11	
einzellig Konidien	300	8 × 6		5—13 × 4— 8	

Sklerotien

sind auf den Agar-Nährböden besonders häufig. Sie entwickeln sich zu unregelmäßig geformten, harten Körpern, die bis zu 3 mm groß werden können. Anfangs sind sie blaß cremefarben und werden mit der Zeit rosa bis orange. Dunkelrotbraune, spangrüne sowie blauviolette Sklerotien, wie sie bei anderen *Elegans*-Fusarien häufig vorkommen, fehlen in der Regel.

Färbungen

Einige Nährböden werden regelmäßig stark gefärbt: Bierwürze-Agar tief braunrot oder dunkelviolett, Möhrendekokt-Agar teilweise oder ganz dunkelviolett bis schwarzblau und Reisbrei rosa, an einigen Stellen auch blauviolett. Auf Hafermehl-Agar, Luzernestengel und Gerstenähre können gelegentlich ebenfalls stellenweise violette bis blauviolette Farbtöne vorkommen.

Geruch

wurde bei keinem der sieben Stämme im Verlauf der Untersuchungen festgestellt.

Fusarium redolens f. *dianthi*

Von diesem *Fusarium* lagen insgesamt drei Stämme (9525 bis 9527) vor, die von kranken Nelken aus zwei Betrieben isoliert worden waren. Die morphologischen Merkmale wurden unter den gleichen Bedingungen studiert, die für *F. oxysporum* f. *dianthi* galten (siehe oben). Da Unterschiede zwischen den einzelnen Stämmen auch hier nicht zu erkennen waren, lassen sie sich gemeinsam wie folgt charakterisieren:

Myzel

entwickelt sich auf allen Substraten, mit Ausnahme von Reisbrei, jedoch nicht so üppig wie bei *F. oxysporum* f. *dianthi.* Es wächst lockerer, bleibt niedriger und erscheint auffallend haarig oder strähnig und durch eingelagerte Mikrokonidien pulverig (vgl. Abb. 6 mit Abb. 5). Das anfangs weiße Myzel färbt sich später oft schwach, auf älteren Bierwürze-Agar-Kulturen auch stärker rosa.

Konidienlager

entstehen auf mehr oder weniger deutlich ausgeprägtem sklerotialem Stroma als tropfen-, seltener blumenkohlartig geformte Sporodochien oder als Pionnotes. Konidienlager bilden sich auf Hafermehl-Agar, Gerstenähre und Luzernestengel reichlich, auf Bierwürze-Agar und Reisbrei fehlen sie immer. Auf Möhrendekokt-Agar kommen sie nur als Pionnotes vor. Die etwa 2 bis 3 mm großen Sporodochien sind heller als die von *F. oxysporum* f. *dianthi*, nämlich in der Regel sahne- oder creme- und nur ausnahmsweise lachs- oder orangefarben.

Konidien

sind einzellig (Mikrokonidien) oder mehrzellig (Makrokonidien). Mikrokonidien entstehen vorwiegend im Luftmyzel. Sie sind ellipsoid, oval oder länglich. Makrokonidien kommen hauptsächlich in den Konidienlagern vor. Sie sind in der Regel im oberen Drittel am dicksten — besonders fällt das bei kurzen, gedrungenen Makrokonidien auf — und schon dadurch recht gut von Sporen des *F. oxysporum* f. *dianthi* zu unterscheiden, bei denen der größte Durchmesser im allgemeinen in der Mitte liegt. Ein recht typisches Merkmal von *F. redolens* f. *dianthi* ist außerdem die Form der Scheitelzelle, die im ganzen plumper und deren Rückenlinie meistens stärker gekrümmt ist. Gelegentlich sind die Konidien am oberen Septum etwas eingeschnürt, so daß die dann oft angeschwollene Scheitelzelle wie eine Zipfelmütze aufsitzt und manchmal abbricht. Die Makrokonidien verjüngen sich nach unten ziemlich

stark; die oft mit einem deutlichen Fuß versehene oder auch abgerundete Fußzelle ist daher meistens als solche sehr gut zu erkennen (Abb. 15, rechts).

Insgesamt wurden von diesem Pilz 5223 Sporen gemessen, und zwar 900 Mikro- und 4323 Makrokonidien, und zum Teil gezeichnet, so daß ein zuverlässiger Vergleich mit *F. oxysporum* f. *dianthi* möglich ist. Die ermittelten Werte, die in Tabelle 10 wiedergegeben sind, beruhen auf Messungen an je 100 0-septierten, 20 1-septierten, 10 2-septierten, 300 3-septierten, 100 4-septierten und 50 5-septierten Konidien eines jeden der drei Stämme auf den Substraten Hafermehl-Agar, Luzernestengel und Gerstenähre.

Tabelle 10

Fusarium redolens f. *dianthi*
Größe der Konidien aller Stämme aus Konidienlagern (in Mikron)

Septenzahl	Zahl der gemessenen Konidien	Durchschnitt		Absolute Schwankung	
		Länge	Dicke	Länge	Dicke
0	900	9 × 3,3		5—19 × 2,1—5,2	
1	180	17 × 3,8		9—29 × 2,8—6,0	
2	90	25 × 4,4		17—42 × 2,9—6,3	
3	2700	36 × 5,2		20—48 × 3,1—7,0	
4	900	40 × 5,3		25—54 × 4,1—7,1	
5	450	43 × 5,2		31—58 × 4,0—6,8	
6	3	45 × 5,5		44—50 × 5,0—6,3	

Tabelle 11

Fusarium redolens f. *dianthi*
Schwankungen der Durchschnittswerte der Konidienproben (in Mikron)

Septenzahl	Anzahl der Konidienproben	Zahl der gemessenen Konidien je Probe	Länge	Dicke
0	10	100	8—12 × 3,0—3,9	
3	30	100	32—43 × 4,9—6,0	
4	10	100	38—44 × 4,9—5,7	
5	10	50	40—48 × 5,1—5,6	

Wie Tabelle 10 erkennen läßt, sind die Konidien von *F. redolens* f. *dianthi* im Durchschnitt deutlich dicker als die von *F. oxysporum* f. *dianthi*. Damit werden die schon für das Auge klar erkennbaren Unterschiede zwischen diesen beiden Welkeerregern (Abb. 15) auch zahlenmäßig belegt.

Die Schwankung der für die einzelnen Proben ermittelten Durchschnittswerte ist in Tabelle 11 wiedergegeben.

Die Durchschnittswerte der Proben können also beträchtlich voneinander abweichen. Im Vergleich zu *F. oxysporum* f. *dianthi* (siehe Tab. 5) sind die

Unterschiede bei den Durchschnittswerten für die Dicke der 3-septierten Konidien besonders groß (4,9 bis 6,0 μ). Es zeigte sich jedoch, daß Unterschiede dieser Größenordnung auch dann auftreten, wenn die Proben von verschiedenen gleich alten Sporodochien ein und derselben Kultur gewonnen wurden. Sie sind also nicht auf Unterschiede zwischen den einzelnen Stämmen zurückzuführen.

Tabelle 12

Fusarium redolens f. *dianthi*

Durchschnittliche Größe der Konidien von drei verschiedenen Substraten (in Mikron)

Septenzahl	Zahl der gemessenen Konidien	Substrat		
		Gerstenähre	Hafermehl-Agar	Luzernestengel
3	900	35 × 5,1	37 × 5,3	35 × 5,0
4	300	39 × 5,3	43 × 5,4	38 × 5,1
5	150	41 × 5,1	46 × 5,3	41 × 5,3

Tabelle 13

Fusarium redolens f. *dianthi*

Häufigkeit der einzelnen Septaten

Septenzahl	Durchschnittlicher Anteil %	Absolute Schwankung %
0	7	0—38
1	3	0—11
2	1	0— 6
3	81	54—99
4	7	0—30
5	1	0—11

Die verschiedenen Substrate hatten ebenfalls keinen stärkeren Einfluß auf die Größe der Konidien (Tab. 12).

Über die Septierungsverhältnisse — es wurden insgesamt 50 Proben zu je 100 Konidien ausgezählt — gibt Tabelle 13 Aufschluß.

Wie bei *F. oxysporum* f. *dianthi* überwogen die 3-septierten Makrokonidien immer, doch war der Anteil an 0- und 1-septierten besonders bei Proben aus pionnotalen Lagern verhältnismäßig groß.

Chlamydosporen

entwickeln sich interkalar und terminal im Myzel und in den Makrokonidien. Sie sind ein- und zwei-, selten mehrzellig, in der Form rundlich bis oval, glatt oder rauh.

Es wurden von jedem Stamm je 50 ein- und zweizellige Clamydosporen aus dem Myzel und 50 einzellige Chlamydosporen in den Makrokonidien gemessen. Die Größe der Chlamydosporen ist aus Tabelle 14 zu entnehmen.

Tabelle 14

Fusarium redolens f. *dianthi*
Größe der Chlamydosporen (in Mikron)

Art und Zahl der gemessenen Chlamydosporen	Durchschnitt		Absolute Schwankung	
	Länge	Dicke	Länge	Dicke
einzellig Myzel 150	8 × 7		5—11 × 4—10	
zweizellig Myzel 150	14 × 8		9—18 × 5—11	
einzellig Konidien 150	8 × 6		5—14 × 4—12	

Sklerotien

entstehen auf Hafermehl-Agar, Gerstenähre und Luzernestengel sowie Reisbrei, nicht aber auf Bierwürze- und Möhrendekokt-Agar. Sie werden 1 bis 2 mm groß und sind knorpelig und blaß cremefarben. Blaugrüne Sklerotien sind nur ausnahmsweise zu beobachten.

Färbungen

des Substrates kommen vor. Sie sind jedoch weniger auffallend als bei *F. oxysporum* f. *dianthi*. Es treten auf Bierwürze- und Möhrendekokt-Agar honig- oder bernsteinartige, auf Reisbrei meistens schwach rosige, gelegentlich stellenweise auch leicht blauviolette Farbtöne auf. Möhrendekokt-Agar und Luzernestengel können sich manchmal auch grünlich färben.

Geruch

Kulturen von *F. redolens* f. *dianthi* auf Bierwürze-, Hafermehl-Agar und Reisbrei duften stark aromatisch, woran dieser Pilz von *F. oxysporum* f. *dianthi* schon früh zu unterscheiden ist.

In ergänzenden Versuchen wurden die Temperaturansprüche von *F. oxysporum* f. *dianthi* und *F. redolens* f. *dianthi* in vitro untersucht und zwar auf Bierwürze-Agar in Petrischalen. Dabei traten keine nennenswerten Unterschiede zu Tage. Beide Erreger wachsen in dem Temperaturbereich von 5 bis 37 °C. Das Optimum liegt bei 28 °C. Bei dieser Temperatur beträgt der tägliche lineare Myzelzuwachs 14 mm. Für *F. oxysporum* f. *dianthi* liegen von anderen Autoren (Wickens 1935, Bickerton 1942, Guba 1945) damit übereinstimmende Ergebnisse bereits vor.

Systematische Stellung der beiden Erreger

Die beiden vorliegenden Fusarien gehören nach ihren morphologischen Merkmalen zweifellos in die Sektion *Elegans*.

Die sieben Isolate (9519 bis 9524 und 9560) des ersten dieser beiden Pilze entsprechen im Typ dem *Fusarium oxysporum* Schl., wenn sie auch durch ihre verhältnismäßig dicken Makrokonidien von den meisten anderen Vertretern dieser Art etwas abweichen.

Die in der Literatur für das als gefäßparasitärer Welkeerreger an Nelken bekannte *Fusarium* aus dem Formenkreis des *F. oxysporum* Schl. mitgeteilten Größenwerte sind zum Vergleich mit den oben angeführten eigenen Befunden in Tabelle 15 zusammengestellt.

Tabelle 15

Größe der Makrokonidien von *Fusarium oxysporum* f. *dianthi* (= *F. dianthi*) nach Literaturangaben (in Mikron)

Autoren	3-septiert	5-septiert
PRILLIEUX und DELACROIX (1899)	25,0 × 3,5	
WOLLENWEBER und REINKING (1935)	34,0 × 4,0	44,0 × 4,3
WICKENS (1935)	30,7 × 4,15	40,5 × 4,3
WOLLENWEBER (1943)	40,0 × 4,4	47,0 × 4,9
MOREAU (1957)	35,0 × 4,0	
Eigene Befunde (Makrokonidien aus Sporodochien)	35,0 × 4,6	42,0 × 4,6

Danach stimmen die in den hiesigen Untersuchungen ermittelten Werte mit den von WOLLENWEBER (1943) angegebenen weitgehend überein. Die von den übrigen Autoren gemessenen Konidien waren dagegen schlanker. Dies sollte jedoch in Anbetracht der Variabilität von *F. oxysporum* und deren Abhängigkeit von dem jeweiligen Zustand der Kultur, den verwendeten Substraten und von anderen Kulturbedingungen nicht überbewertet werden, zumal die zitierten Autoren keine Angaben über die Zahl der gemessenen Konidien machen und auch nicht mitteilen, ob diese aus Sporodochien oder aus dem Luftmyzel stammten. Daß Makrokonidien aus dem Luftmyzel schlanker sein können als solche aus Sporodochien, hat sich ja auch in den eigenen Untersuchungen deutlich gezeigt (vgl. Tab. 4 mit Tab. 8). Die hier festgestellte größere Dicke der Makrokonidien aus Sporodochien kann daher nicht als eine taxonomisch wesentliche Abweichung betrachtet werden: Bei den sieben vorliegenden aus deutschen Gärtnereien stammenden Isolaten dieses Gefäßparasiten der Nelke handelt es sich um *Fusarium oxysporum* Schl. f. *dianthi* (Prill. et Del.) Snyder et Hansen (1940).

Die drei eigenen Isolate (9525 bis 9527) des zweiten Welkeerregers aus der *Fusarium*-Sektion *Elegans* sind, wie die oben mitgeteilten Befunde belegen, sowohl in ihren Mikro- und Makrokonidien als auch in ihrem Kulturverhalten von *Fusarium oxysporum* f. *dianthi* eindeutig verschieden. Sie passen am besten in den Formenkreis von *Fusarium redolens* Wollenweber (1913 und 1931) im erweiterten Sinne von GERLACH (1961) und werden dementsprechend als *Fusarium redolens* Wr. f. *dianthi* Gerlach (GERLACH und PAG 1961) bestimmt.

Pathogenität

Die Pathogenität der sechs bis zum Frühjahr 1960 isolierten Stämme von *Fusarium oxysporum* f. *dianthi* (9519 bis 9524) und der drei Isolate von *Fusarium redolens* f. *dianthi* (9525 bis 9527) wurde in mehreren aufeinander folgenden Infektionsversuchen geprüft. Die Anzucht des Infektions- und Pflanzenmaterials sowie der Versuchsansatz erfolgten auf die gleiche Weise wie bei *Phialophora cinerescens* (siehe Seite 127).

Im ersten Versuch wurden am 15. Juni 1960 je zehn vier Monate alte Edelnelken der Sorten „Pink Sim" und „Red Sim" in ein mit den oben angeführten neun *Fusarium*-Stämmen verseuchtes Substrat gepflanzt (11-cm-Töpfe). Je 20 Pflanzen der beiden Nelkensorten dienten als Kontrolle. Während des Versuches lag die Temperatur zwischen 12 und 33 °C, die relative Luftfeuchtigkeit zwischen 60 und 100 %.

Die ersten Symptome zeigten sich nach drei Wochen. Am 8. August 1960 — also nach knapp zwei Monaten — waren von den 180 infizierten Nelken 176 abgestorben, die übrigen vier sichtbar erkrankt. Die Kontrollpflanzen blieben gesund.

In einem weiteren Versuch erwies sich der siebte Stamm (9560), der erst später isoliert wurde, ebenfalls als pathogen; nach zehn Wochen waren neun von zehn infizierten Pflanzen (Sorte „Pink Sim") abgestorben oder stark geschädigt.

Da Snyder (1941) eine seiner Meinung nach auf Bartnelken (*Dianthus barbatus)* spezialisierte Form von *F. oxysporum* Schl. em. Snyder et Hansen, *Fusarium oxysporum* f. *barbati,* beschrieben hat, wurde außerdem das Verhalten der neun im ersten Versuch an Edelnelken geprüften Stämme gegenüber Bartnelken untersucht. Die insgesamt 90 (je Stamm 10) infizierten, 30 Tage alten Bartnelken waren bereits nach vier Wochen ausnahmslos abgestorben. Die Bartnelke ist demnach gegenüber den hier an Edelnelken als pathogen nachgewiesenen Stämmen besonders stark anfällig. Sollte ein nur auf Bartnelken spezialisierter Vertreter von *Fusarium oxysporum* tatsächlich existieren, was Snyder nicht eindeutig bewiesen hat, so wäre es nach den hier vorgelegten Ergebnissen und denen von Armstrong und Armstrong (1953) sowie Gerlach und Pag (1961) zumindest zweckmäßig, diesen nicht als selbständige forma specialis, sondern allenfalls als Rasse von *Fusarium oxysporum* f. *dianthi* aufzufassen (vgl. Armstrong und Armstrong 1954).

Mit Stamm 9519 von *Fusarium oxysporum* f. *dianthi* wurde darüber hinaus ein Infektionsversuch an Remontant-Nelken durchgeführt. Dieses Isolat stammte ja, wie der Stamm 9520, aus einer Berliner Gärtnerei, in der 1958 und 1959 an Remontant-Nelken im Freiland große Ausfälle aufgetreten waren. Am 12. November 1960 wurden zehn zwei Monate alte Pflanzen der Sorte „Agadir" in der oben beschriebenen Weise infiziert. In dem Gewächshaus, in dem die Versuchspflanzen aufgestellt wurden, betrug die Temperatur annähernd 26 °C, die relative Luftfeuchtigkeit schwankte zwischen 60 und 90 %. Innerhalb von drei Wochen starben alle infizierten Remontant-Nelken ab; die Kontrollpflanzen blieben gesund.

Die in den Infektionsversuchen erkrankten Nelken, deren Symptome denen natürlich befallener Pflanzen voll entsprachen, wurden eingehend untersucht. Der jeweilige Erreger konnte immer reisoliert werden. Alle zehn geprüften *Fusarium*-Stämme waren eindeutig pathogen.

2. Symptome und Verlauf der Krankheit

Die beiden von *Fusarium oxysporum* f. *dianthi* und *F. redolens* f. *dianthi* hervorgerufenen Welkekrankheiten waren an ihren Symptomen und ihrem Verlauf nicht voneinander zu unterscheiden. Die in der Praxis und in den Infektionsversuchen beobachteten Krankheitsbilder können deshalb für beide gemeinsam beschrieben werden.

Abb. 16. *Fusarium oxysporum* f. *dianthi;* einseitig erkrankte Edelnelke mit horizontal weiterwachsender Triebspitze

Abb. 17. *Fusarium oxysporum* f. *dianthi;* einseitig erkrankte Nelke mit Platzwunden am Stengel

Die ersten äußeren Symptome zeigen sich in der Regel an den untersten Blättern. Diese nehmen zunächst eine hellere Färbung an. Später werden sie dann allmählich weißlichgelb bis gelb, verfärben sich hin und wieder partiell

braunviolett und trocknen gelegentlich vom Blattgrund her an den Rändern ein. Schließlich welken diese Blätter, hängen schlaff am Stengel herunter und vertrocknen. Oft sind diese Symptome — besonders zu Beginn der Krankheit — nur auf einer Seite eines Triebes zu beobachten. Häufig wächst dann dessen Spitze horizontal der kranken Seite zugeneigt weiter (Abb. 16). Auf den noch grünen Stengeln solcher einseitig befallenen Pflanzen zeigen sich hin und wieder bräunliche Längsstriche. Gelegentlich zieht sich auch von unten herauf einseitig eine durchgehende braune Läsion am Stengel empor. An diesen verbräunten Rindenpartien reißt das Gewebe zuweilen auf, so daß mehrere Zentimeter lange Platzwunden entstehen (Abb. 17). Schließlich welken alle Blätter, und die Pflanzen sterben ab. In Ausnahmefällen kommt es vor, daß Nelken plötzlich zusammenbrechen, ohne vorher irgendwelche äußeren Symptome erkennen zu lassen.

Als erste innere Symptome zeigen sich auf Querschnitten durch den Stengelgrund im Bereich des Gefäßbündelringes kleine gebräunte Partien. Diese Verfärbungen werden allmählich stärker. Ihr Ausmaß nimmt in der Regel mit der Höhe im Stengel zu und von einer beliebigen Stelle an zur Triebspitze hin wieder ab. Dabei geht die Verbräunung verhältnismäßig schnell — meistens schneller als bei den anderen hier behandelten Welkeerregern — vom Gefäßbündelring nach innen und außen auf die angrenzenden Gewebe über (Abb. 18). An Stellen, wo die Verbräunungen noch nicht zu weit fortgeschritten sind, vor allem aber im oberen Teil des Stengels, aus dem der Erreger noch nicht immer zu isolieren ist, erscheint das Gefäßgewebe besonders hell und hebt sich als weißer Ring von dem übrigen Stengelquerschnitt ab (Abb. 18, vgl. Hellmers 1960). Es muß jedoch darauf hingewiesen werden, daß der Gefäßbündelring auch in gesunden Nelken in ähnlicher Weise, wenn auch nicht so stark, hervortritt.

Da das Gewebe im Innern des Nelkenstengels meistens schnell eintrocknet, fühlen sich auch noch grüne Stengel oft schon hohl an. Reißt man solche Nelkenstengel an, so findet man unter der noch festen Rinde ein weißes bis bräunliches, faserartiges und trockenes Gewebe (Abb. 19). Diese vergleichsweise starken pathologischen Veränderungen des Stengelinnern und dessen trockene, faserartige Beschaffenheit wurden bei keiner anderen Welkekrankheit der Edelnelke beobachtet; sie dürfte für *Fusarium*-Befall charakteristisch sein.

Das Wurzelwerk macht anfangs noch einen recht gesunden Eindruck, doch sind regelmäßig — wie bei *Phialophora cinerescens* (Abb. 2) — einzelne gebräunte Wurzeln zu erkennen, welche die Eintrittspforten des Erregers darstellen. In diesem Stadium bilden sich am Stengelgrund nicht selten noch einige Triebe (Abb. 17), die aber wie die ganze Pflanze bald welken. Später

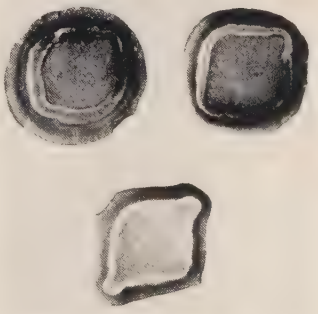


Abb. 18. *Fusarium redolens* f. *dianthi*; Verbräunungen und auffallend helle Gefäßbündelringe auf Querschnitten durch Stengel kranker Nelken

gehen alle Wurzeln mehr oder weniger schnell in Fäulnis über, und auch der Stengelgrund wird weich und naßfaul. Auf abgestorbenen unteren Stengelteilen können gelegentlich Sporodochien der beiden Fusarien beobachtet werden (Abb. 20).

Abb. 19. *Fusarium oxysporum* f. *dianthi;* angerissener Nelkenstengel mit herausgetretenem, faserartigem Gewebe

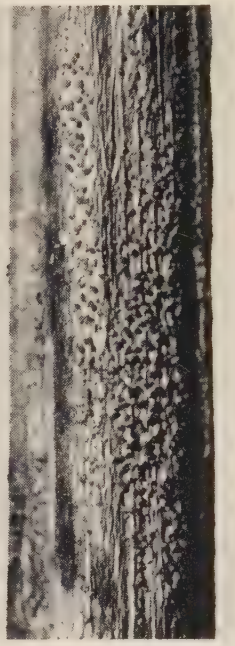


Abb. 20. *Fusarium oxysporum* f. *dianthi;* Sporodochien auf abgestorbenem Nelkenstengel (schwach vergrößert)

c) Die *Rhizoctonia*-Welkekrankheit

Im Verlauf der im ersten Abschnitt behandelten Untersuchungen über die Ätiologie des „Nelkensterbens" in Deutschland wurden auch mehrfach Pilze aus dem Formenkreis von *Rhizoctonia solani* isoliert. Das brauchte nicht zu überraschen, soweit es sich um Pflanzen mit den typischen Symptomen einer Stengelgrundfäule handelte (Abb. 3); denn *Rhizoctonia solani* ist als Erreger von Stengelgrundfäulen der Nelken ja seit langem bekannt (siehe S. 117 u. 118) Im April 1959 wurde jedoch *Rhizoctonia solani* in Nelken aus einer westdeutschen Gärtnerei nachgewiesen, die bei völlig intaktem Stengelgrund die typischen Merkmale einer gefäßparasitären Welkekrankheit erkennen ließen. Aus diesen Pflanzen konnte der Pilz einheitlich und praktisch ohne Verunreinigungen noch aus Stengelteilen in einer Höhe von etwa 40 cm isoliert werden. Dieser bemerkenswerte Sachverhalt machte eine nähere Untersuchung erforderlich, zumal in der Literatur ein, wenn auch vager Hinweis darauf bereits vorlag

(Pesante 1959), daß sich bestimmte Stämme von *Rhizoctonia solani* an Nelken wie Gefäßparasiten verhalten können.

1. Der Erreger

Rhizoctonia solani Kühn

Morphologie und Verhalten in Kultur

Zwei der aus Gefäßpartien verschiedener Nelken isolierten *Rhizoctonia*-Stämme (9528 und 9529) wurden auf Bierwürze-Agar kultiviert und eingehend studiert. Sie lassen sich wie folgt kennzeichnen:

Wuchsbild

Der Pilz wächst, wie viele andere Stämme von *Rhizoctonia solani,* verhältnismäßig schnell. Das Myzel ist anfangs weiß und wächst in der Regel strahlig-strähnig flach über das Substrat hin, wobei häufig deutliche Zonenbildung zu erkennen ist (Abb. 21, links). Nach einigen Tagen färbt es sich hellbraun bis braun, hebt sich vom Substrat stärker ab und wird wollig (Abb. 21, rechts).

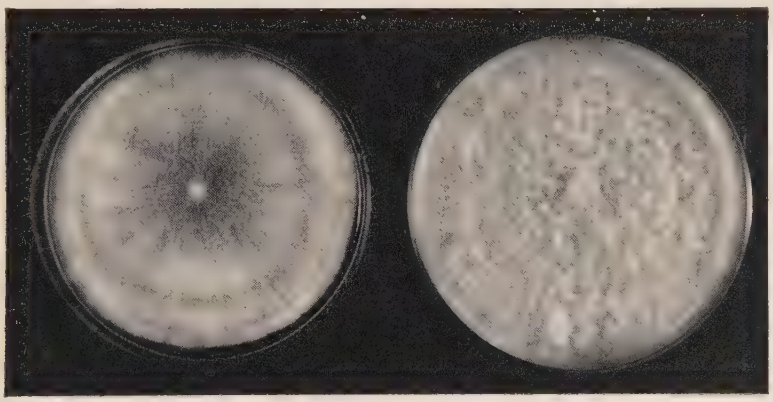


Abb. 21. *Rhizoctonia solani* (Gefäßparasit); Wuchsbild auf Bierwürze-Agar, nach 7 Tagen (links), nach 17 Tagen (rechts)

Hyphen

Die Hyphen sind im allgemeinen stark verzweigt. Die Haupthyphen sind im Vergleich zu den Seitenhyphen verhältnismäßig dünn. Besonders auffällig sind Einschnürungen vor allem an den oft fast rechtwinklig abgehenden Seitenhyphen in der Nähe der Abzweigstellen, wo meistens ein Septum angelegt wird.

Es wurden Hyphenmessungen an Dünnschichtkulturen auf Objektträgern vorgenommen, und zwar auf dem von Richter und Schneider (1953) verwendeten synthetischen Nährboden. Die Objektträger wurden auf feuchtes Filtrier-

papier in Petrischalen gelegt und in einen Brutschrank mit einer Temperatur von 26 °C gebracht. Die Messungen erfolgten nach drei Tagen an je 100 Hauptphyphen der beiden Isolate 3 cm hinter den Spitzen. Die Ergebnisse waren für beide Stämme gleich: Die durchschnittliche Dicke betrug 5 (4 bis 6) μ. Die Werte für die Dicke der Seitenhyphen, die auf die gleiche Weise ermittelt wurden, schwankten zwischen 6 und 11 μ.

Pseudosklerotien

entwickeln sich einzeln oder in Tuffs, und zwar in der Regel erst nach zwei bis drei Wochen. Sie sind hell- bis dunkelbraun, unterschiedlich geformt und werden bis 5 mm groß.

Der Einfluß der Temperatur auf das Wachstum dieser beiden *Rhizoctonia*-Stämme in vitro wurde in ergänzenden Versuchen geprüft. Auf Bierwürze-Agar in Petrischalen wächst der Pilz bei Temperaturen zwischen 4 und 39 °C. Das Optimum liegt bei 30 °C. Bei optimaler Temperatur beträgt der tägliche lineare Myzelzuwachs 21 mm.

Systematische Stellung

Auf Grund seiner morphologischen Merkmale ist der Pilz wohl am besten dem Formenkreis von *Rhizoctonia solani* Kühn zuzuordnen. RICHTER und SCHNEIDER (1953), die 176 verschiedene Herkünfte dieser morphologisch und biologisch recht vielfältigen Sammelart auf ihre Fähigkeit untersuchten, miteinander Anastomosen zu bilden, wiesen sechs Fusionsgruppen (A bis F) nach. Sie stellten außerdem fest, daß Stämme einer Fusionsgruppe auch hinsichtlich ihrer Hyphendicke gut miteinander übereinstimmen. Die durchschnittliche Dicke der Hyphen, die für die beiden aus Nelken isolierten *Rhizoctonia*-Stämme (9528 und 9529) ermittelt wurde, liegt ungefähr in derselben Größenordnung, wie sie RICHTER und SCHNEIDER für die Vertreter ihrer Fusionsgruppe E festgestellt hatten. Es wurde deshalb geprüft, ob die beiden eigenen Isolate mit zwei Stämmen (7423 und 7425) dieser Gruppe E Anastomosen bilden. Das war jedoch in keinem Falle festzustellen. Dagegen anastomosierten sowohl die beiden Vertreter der Fusionsgruppe E als auch die beiden von Nelken isolierten *Rhizoctonia*-Stämme untereinander. Ob die Isolate 9528 und 9529 in eine der von RICHTER und SCHNEIDER aufgestellten Fusionsgruppen eingeordnet werden können, bedarf daher weiterer Untersuchungen.

Pathogenität

Am 27. April 1960 wurde mit den beiden *Rhizoctonia*-Isolaten 9528 und 9529 ein Infektionsversuch an Edelnelken der Sorte „White Sim" angesetzt, und zwar ebenfalls nach der bei *Phialophora cinerescens* angewandten Methode (siehe oben Seite 127). Die Versuchspflanzen (jeweils zehn je Stamm und fünfzehn Kontrollpflanzen) standen in 10-cm-Töpfen im Gewächshaus. Die Temperatur schwankte zwischen 11 und 32 °C, die relative Luftfeuchtigkeit zwischen 65 und 100 %.

Zwei Monate nach Versuchsbeginn ließen sich die ersten Symptome feststellen. Nach drei Monaten waren von den 20 infizierten Nelken 14 abgestorben, die übrigen welkten. Die Kontrollpflanzen blieben gesund.

Ein weiterer Infektionsversuch mit Pflanzen der Sorten „Pink Sim" und „Red Sim" verlief entsprechend.

Die in diesen Versuchen erkrankten Nelken zeigten in keinem Falle Anzeichen einer Stengelgrundfäule (Abb. 22); die Stengel waren vielmehr äußerlich noch völlig intakt, wenn die Pflanzen bereits stark welkten.

Abb. 22. *Rhizoctonia solani* (Gefäßparasit); links: künstlich infizierte Nelke mit gebräunten Gefäßpartien ohne Anzeichen einer Stengelgrundfäule (Längsschnitt); rechts: gesunde Pflanze

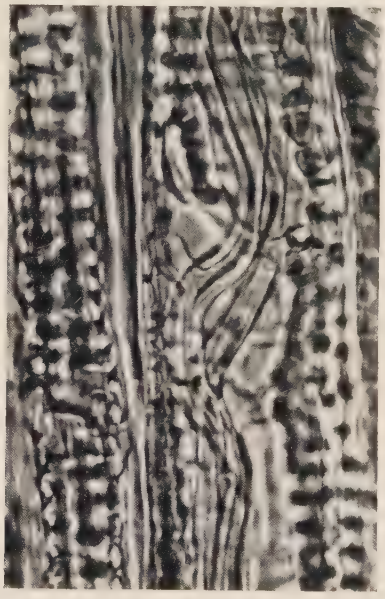


Abb. 23. *Rhizoctonia solani* (Gefäßparasit); Hyphen in einer Trachee (Längsschnitt durch den Stengel einer welkekranken Nelke) (750 : 1)

Um festzustellen, ob der Erreger in diesen Pflanzen tatsächlich nur in den Gefäßen vorkommt, wurden mit Hilfe eines Gefriermikrotoms 10 bis 15 μ dicke Quer- und Längsschnitte durch Stengel in Höhen bis zu 20 cm hergestellt und diese mit Chloralhydrat aufgehellt. Bei der Durchsicht von über 150 so vorbereiteten Präparaten konnten Hyphen des Erregers immer, und zwar nur im Xylem, jedoch niemals in anderen Geweben der Stengel nachgewiesen werden (Abb. 23). Da aus solchen Gefäßpartien regelmäßig eine *Rhizoctonia* zu isolieren war, die morphologisch mit den Ausgangskulturen völlig übereinstimmte, kann es

nicht zweifelhaft sein, daß die beiden Isolate 9528 und 9529 von *Rhizoctonia solani* eine Tracheomykose an Edelnelken hervorrufen.

2. Symptome und Verlauf der Krankheit

Das erste äußere Symptom der *Rhizoctonia*-Welkekrankheit ist meistens ein reversibles Welken der oberen Blätter, das naturgemäß an warmen Tagen besonders stark in Erscheinung tritt. Dann beginnen die unteren Blätter zu vergilben, während das übrige Laub sich weißlichgrün verfärbt. Später welkt die Pflanze irreversibel und stirbt ab. Eine längere Zeit einseitig bleibende Welke, wie sie bei *Phialophora-* und *Fusarium*-Befall oft vorkommt, konnte an den mit *Rhizoctonia solani* infizierten Pflanzen nicht festgestellt werden.

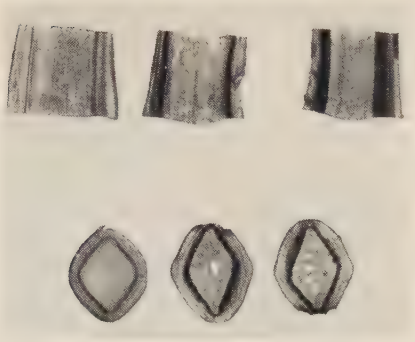


Abb. 24. *Rhizoctonia solani* (Gefäßparasit); Längs- und Querschnitte durch Stengel kranker und (links) gesunder Pflanzen

Im Innern der Stengel welkender Nelken sind auf Längs- und Querschnitten Gefäßverbräunungen zu erkennen, die oft besonders scharf begrenzt sind (Abb. 24), schärfer als bei den anderen hier behandelten Gefäßparasiten der Nelken. Das Ausmaß dieser Verfärbungen nimmt vom Stengelgrund zur Triebspitze hin ab.

Das Wurzelwerk sieht auch bei *Rhizoctonia*-Befall anfangs noch fast gesund aus; nur einzelne Wurzeln, über die der Erreger eingedrungen ist, sind braun verfärbt. Wenn die oberirdischen Pflanzenteile welken, sind in der Regel jedoch alle Wurzeln verfault. Selbst dann ist der Stengelgrund im typischen Falle immer noch fest und ohne irgendwelche Fäulniserscheinungen (Abb. 22).

II. Tracheobakteriosen

a) Die *Pectobacterium*-Welkekrankheit

1. Der Erreger

Pectobacterium parthenii (Starr) Hellmers v. *dianthicola* Hellmers

Im Verlauf der hier durchgeführten Untersuchungen wurde dieser Gefäßparasit der Nelke in 17 Betrieben festgestellt. Bisher liegt nur ein Hinweis von STAHL (1958) vor, demzufolge *P. parthenii* v. *dianthicola* auch in Deutschland vorkommen soll; doch hat diese Autorin den experimentellen Beweis dafür nicht erbracht.

Morphologie und Verhalten in Kultur

Pectobacterium parthenii v. *dianthicola* ist ein peritrich begeißeltes Stäbchen (Abb. 25). Bei elektronenmikroskopischen Untersuchungen[1]) wurden ein bis elf — meistens sechs bis acht — Geißeln festgestellt.

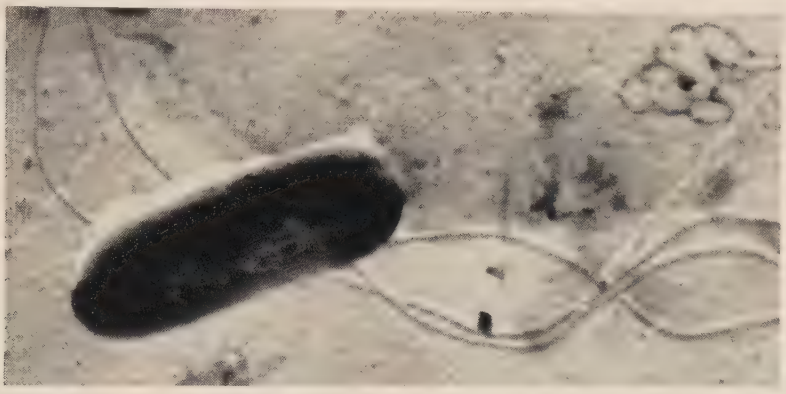


Abb. 25. *Pectobacterium parthenii* v. *dianthicola* (25 000 : 1)

Diese lassen sich nach dem etwas abgewandelten Zettnowschen Verfahren (Stapp 1958) gut (Abb. 26), nach dem von Sous angegebenen (Lembach und Sous 1948) dagegen nur unbefriedigend färben.

100 Zellen einer 48 Stunden alten Kartoffel-Dextrose-Agar-Kultur des Stammes B 13, mit Methylenblau schwach angefärbt (Stapp 1958), wurden gemessen. Die für dieses Bakterium ermittelten Größenwerte von 0,9—3,7 × 0,5—0,9 μ stimmen mit den von Lelliott (1956) und Hellmers (1958) angegebenen Werten (0,8—3,2 × 0,5—0,8 μ bzw. 0,7—3,5 × 0,5—0,9 μ) überein.

Abb. 26. *Pectobacterium parthenii* v. *dianthicola* (Geißelfärbung nach Zettnow) (1000 : 1)

Um die *Pectobacterium*-Herkünfte (B 1 bis B 17) in ihren Kultureigenschaften miteinander vergleichen zu können, wurden die 17 Stämme auf verschiedenen Nährböden bei 26 °C im Brutschrank kultiviert. (Das Temperaturoptimum liegt nach Hellmers [1958] zwi-

[1]) Die elektronenmikroskopischen Untersuchungen wurden am Siemens-Elmiskop I bei einer Strahlenspannung von 80 KV durchgeführt. Mit Formvar befilmte Objektträger wurden im Winkel von 18 ° mit Siliziummonoxyd bedampft, nachdem eine 48 Stunden alte Bakteriensuspension auf diesen angetrocknet war.

schen 25 und 27 °C). Da hierbei keine Unterschiede festzustellen waren, trifft für alle Stämme folgende Beschreibung zu:

Nähr-Agar[1])

Der Organismus wächst auf diesem Nährboden gut. Das erste Bakterienwachstum ist oft schon 18 Stunden nach dem Beimpfen sichtbar. Die anfänglich runden, ganzrandigen, durchsichtigen und glänzenden Kolonien werden nach etwa zwei Tagen cremefarben. Der Rand ist dann leicht gezackt. Eine annähernd runde Form der Kolonien bleibt aber meistens erhalten. Bei Zimmertemperatur ist der Erreger ungefähr eineinhalb Monate auf diesem Medium lebensfähig, bei 6 °C unter sterilem Paraffinöl sogar vier bis acht Monate.

Kartoffel-Dextrose-Agar (Difco Nr. 0013)

Auch auf diesem Nährboden wächst *P. parthenii* v. *dianthicola* gut. Nach 24 Stunden kann deutliches Wachstum beobachtet werden. Zuerst sind die Kolonien rund und milchig bis blaßgelblich. Ihr Zentrum wird jedoch bald leicht bräunlich, und die Färbung nimmt mit dem Alter der Kultur an Intensität zu. Die anfangs runden Bakterienkolonien zerfließen und sehen dann gelappt aus. Auf diesem Substrat bleibt das Bakterium bei Zimmertemperatur bis zu zwei Monaten und unter sterilem Paraffinöl bei 6 °C mehrere Monate lang lebensfähig.

Bierwürze-Agar

Auf diesem Nährboden entwickelt sich das Bakterium ebenfalls sehr gut. Meistens ist bereits 18 Stunden nach dem Beimpfen Wachstum festzustellen.

Die Form der Kolonien ähnelt derjenigen auf Kartoffel-Dextrose-Agar. Braunfärbungen treten jedoch nicht auf. Die Kolonien sind glänzend, durchsichtig und bleiben gelblich-weiß mit bläulichem Anflug.

Rohe Kartoffel- und Möhrenstücke werden von allen 17 *Pectobacterium*-Stämmen nach 24 Stunden mehr oder weniger stark zersetzt.

In flüssigen Medien ist der Erreger nach einiger Zeit aktiv beweglich. Kettenbildung kommt häufig vor.

Die auf Nähr- und Kartoffel-Dextrose-Agar beobachteten Kulturmerkmale entsprechen der Beschreibung von HELLMERS (1958).

Serologisches Verhalten

Nach der von STAPP (1958) beschriebenen Methode wurde untersucht, ob sich die in Deutschland aus Nelken isolierten 17 *Pectobacterium*-Stämme serologisch einheitlich verhalten, und ob sie mit der dänischen Isolierung No. 98[2]) identisch sind.

Außerdem wurden in die Teste zwei an Nelken pathogene Stämme von *Pseudomonas caryophylli* [B 18 und No. 88[2])] einbezogen, um zu sehen, inwieweit sie mit dem gegen *P. parthenii* v. *dianthicola* hergestellten Serum reagieren.

[1]) Siehe Fußnote Seite 120.

[2]) Die Bakterienstämme No. 98 und No. 88 wurden freundlicherweise von Herrn Dr. HELLMERS, Dänemark, zur Verfügung gestellt, dem auch an dieser Stelle dafür gedankt sei.

Für diese Versuche wurde gegen den dänischen *Pectobacterium*-Stamm No. 98 ein Antiserum mit dem Titer 8000 gewonnen. Die Ergebnisse des Agglutinationsversuches sind in Tabelle 16 zusammengestellt.

Tabelle 16

Agglutinationsversuch

Serum *Pectobacterium parthenii* v. *dianthicola* (No. 98)

Bakterienstämme	Serumverdünnung				
	1 : 4000	1 : 5000	1 : 8000	K	N 1 : 50
No. 98	+++	++	+	—	—
B 1	+++	+++	+	—	—
B 2	+++	++	+	—	—
B 3	+++	+++	(+)	—	—
B 4	+++	+++	(+)	—	—
B 5	+++	+++	+	—	—
B 6	+++	++	+	—	—
B 7	+++	++	+	—	—
B 8	+++	++	+	—	—
B 9	+++	++	+	—	—
B 10	+++	++	+	—	—
B 11	+++	+++	++	—	—
B 12	+++	++	+	—	—
B 13	+++	++	+	—	—
B 14	+++	++	+	—	—
B 15	+++	++	(+)	—	—
B 16	+++	++	+	—	—
B 17	+++	++	+	—	—

+++ bis (+) kennzeichnen die Stärke der Agglutination.
K physiologische Kochsalzlösung.
N Normalserum.

Alle geprüften *Pectobacterium*-Herkünfte wurden bei den Verdünnungsstufen 1 : 50, 1 : 100, 1 : 200, 1 : 400, 1 : 800, 1 : 1000, 1 : 2000 und 1 : 4000 stark agglutiniert. Erst nach einer Verdünnung von 1 : 5000 und 1 : 8000 waren die Reaktionen bei einigen Stämmen etwas schwächer als bei anderen.

Die Ergebnisse des Präzipitationsversuches (Tab. 17), der in Zweifelsfällen darüber entscheiden kann, ob zwei Bakterienherkünfte miteinander serologisch identisch oder verwandt sind oder in keiner Beziehung zueinander stehen, waren für alle untersuchten *Pectobacterium*-Stämme bei Serumverdünnungen von 1 : 10 1 : 50 und 1 : 100 positiv; bei Verdünnungen von 1 : 500 und 1 : 1000 negativ.

Die beiden Stämme von *Pseudomonas caryophylli* (B 18 und No. 88) reagierten mit dem oben bezeichneten Serum im Agglutinationsversuch bis zu einer Verdünnung von 1 : 400 noch schwach. Der Präzipitationsversuch verlief dagegen negativ.

Tabelle 17

Präzipitationsversuch

Serum *Pectobacterium parthenii* v. *dianthicola* (No. 98)

Bakterienstämme	Serumverdünnung					
	1 : 10	1 : 50	1 : 100	1 : 500	1 : 1000	N 1 : 10
No. 98	+	+	+	—	—	—
B 1	+	+	+	—	—	—
B 2	+	+	+	—	—	—
B 3	+	+	(+)	—	—	—
B 4	+	+	+	—	—	—
B 5	+	+	+	—	—	—
B 6	+	+	+	—	—	—
B 7	+	+	+	—	—	—
B 8	+	+	+	—	—	—
B 9	+	+	+	—	—	—
B 10	+	+	+	—	—	—
B 11	+	+	+	—	—	—
B 12	+	+	(+)	—	—	—
B 13	+	+	+	—	—	—
B 14	+	+	+	—	—	—
B 15	+	+	+	—	—	—
B 16	+	+	(+)	—	—	—
B 17	+	+	+	—	—	—

+ positiv, — negativ, N Normalserum.

Aus diesen Untersuchungen geht hervor, daß sich die deutschen Herkünfte von *Pectobacterium parthenii* v. *dianthicola* serologisch von der dänischen Isolierung No. 98 nicht unterscheiden lassen.

Da HELLMERS (1958) diesen Gefäßparasiten der Nelke eingehend auf seine biochemischen Leistungen geprüft hat, wurde auf eigene derartige Untersuchungen verzichtet.

Pathogenität

Ob die 17 isolierten *Pectobacterium*-Stämme an Nelken pathogen sind und sich auch in dieser Hinsicht so einheitlich verhalten, wie es bei den serologischen Untersuchungen der Fall war, wurde in mehreren Infektionsversuchen an Edelnelken geprüft. Gesunde, verschieden alte Pflanzen, die in 7-cm-Töpfen in gedämpfter Erde herangewachsen waren, wurden auf zwei verschiedene Arten infiziert, und zwar durch Stichinfektion und im Tauchverfahren.

Bei der Stichinfektion wurde Bakterienschleim von zwei Tage alten Kulturen auf Nähr-Agar in Wunden gestrichen, die an Stengeln von Edelnelken (verschiedene „Sim"-Sorten) 8 bis 10 cm über dem Erdboden angebracht worden waren. Die in gleicher Weise behandelten Kontrollpflanzen erhielten an Stelle des Bakterienschleims destilliertes Wasser.

Jüngere (etwa fünf bis sieben Wochen alte) Nelken, die nach dieser Methode behandelt worden waren, starben bei einer annähernd konstanten Tem-

peratur um 25 °C und einer hohen relativen Luftfeuchtigkeit innerhalb von vier bis zehn Wochen ab. Bei älteren Pflanzen mit bereits verholzten Stengeln war der Infektionserfolg jedoch nicht immer so befriedigend wie bei Anwendung des Tauchverfahrens. Diesem wurde deshalb in späteren Versuchen der Vorzug gegeben.

Bei dem Tauchverfahren wurden von jedem *Pectobacterium*-Stamm zehn 48 Stunden alte Nähr-Agar-Schrägkulturen mit steriler 0,8%iger NaCl-Lösung abgeschwemmt und die so erhaltenen Bakteriensuspensionen jeweils auf 500 ml aufgefüllt. Die Versuchspflanzen waren vier Monate alt. Sie wurden ausgetopft und mit dem Wurzelballen für ungefähr eine Stunde in eine der 17 Bakteriensuspensionen — die Kontrollpflanzen in 0,8 %ige NaCl-Lösung — gestellt, nachdem vorher die äußere Ballenerde vorsichtig entfernt worden war. Anschliessend wurden die so behandelten Nelken in 11-cm-Töpfe in gedämpfte Erde gepflanzt (siehe oben S. 127).

Am 24. November 1959 wurden im Tauchverfahren 170 Pflanzen mit den *Pectobacterium*-Herkünften B 1 bis B 9, B 11 bis B 17 und No. 98 infiziert, und zwar mit jedem Stamm zehn Nelken der Sorten „Red Sim", „Pink Sim", „Salmon Sim", „White Sim" und „Lucky Strike". Die Kontrolle bestand aus 20 Pflanzen. Der Versuch stand im Gewächshaus bei Temperaturen zwischen 21 und 29 °C, die relative Luftfeuchtigkeit lag in der Regel zwischen 60 und 80 %.

Drei Wochen nach Versuchsbeginn welkten die ersten Pflanzen. Bei Abschluß des Versuches nach zehn Wochen waren 168 der 170 infizierten Nelken abgestorben, die beiden letzten sichtbar krank. Die Kontrollpflanzen blieben gesund.

In einem zweiten Infektionsversuch wurden am 2. August 1960 mit jedem der 18 vorliegenden *Pectobacterium*-Stämme (B 1 bis B 17 und No. 98) zehn Nelken der Sorte „Clear Yellow Sim" — also 180 Pflanzen — in der oben beschriebenen Weise infiziert; 20 Nelken dienten wiederum als Kontrolle. Die Gewächshaustemperatur schwankte zwischen 11 und 32 °C, die relative Luftfeuchtigkeit zwischen 55 und 100 %.

Die ersten Symptome zeigten sich nach 6 Wochen, nach 17 Wochen waren von 180 infizierten Nelken 168 abgestorben oder welkten. Die übrigen 12 Pflanzen sahen äußerlich noch gesund aus, wiesen jedoch Gefäßverbräunungen auf. Die Kontrollpflanzen ließen keinerlei Krankheitserscheinungen erkennen.

Alle in den Infektionsversuchen erkrankten Pflanzen wurden sorgfältig untersucht. Ihre Symptome glichen denen natürlich infizierter Nelken. *Pectobacterium parthenii* v. *dianthicola* konnte immer aus verschiedenen Stengelabschnitten reisoliert werden, auch aus solchen, in denen Gefäßverbräunungen fehlten, und aus den Pflanzen, an denen bei Versuchsabschluß noch keine äußeren Symptome erkennbar waren.

Die Ergebnisse der Infektions- und Reisolierungsversuche beweisen, daß alle 17 deutschen Herkünfte von *Pectobacterium parthenii* v. *dianthicola* an Edelnelken stark pathogen sind und sich auch in dieser Hinsicht von dem aus Dänemark bezogenen Vergleichsstamm (Hellmers No. 98) nicht unterscheiden.

2. Symptome und Verlauf der Krankheit

Das erste äußere Symptom der *Pectobacterium*-Welkekrankheit ist in der Regel ein Welken der Blätter, oft nur im Bereich der Triebspitzen. Bei warmem Wetter welkt jedoch manchmal das ganze Laub. Die Blätter hängen schlaff am Stengel herunter oder rollen sich korkenzieherförmig ein. Dieses anfangs nur zeitweilige Welken wird später irreversibel. Die Blätter in Nähe des Stengelgrundes beginnen dann zu vergilben, während das übrige Laub sich fahl graugrün verfärbt, bräunliche Farbtöne annimmt und schließlich strohfarben wird und verdorrt.

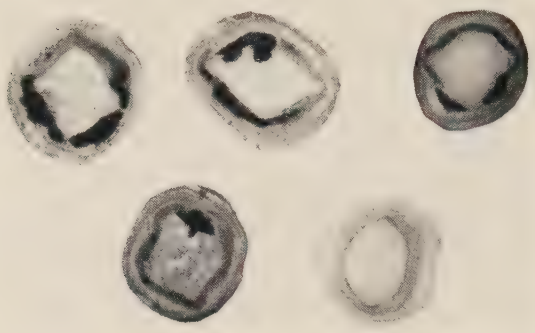


Abb. 27. *Pectobacterium parthenii* v. *dianthicola*; Querschnitte durch Stengel kranker und (rechts unten) gesunder Pflanzen

Im Innern kranker Pflanzen sind helle oder dunklere Verbräunungen festzustellen, die meistens von einem wässerigen Hof umgeben sind und nicht immer streng auf die Gefäßpartien beschränkt sein müssen (Abb. 27). Diese Verfärbungen sind im Bereich des Stengelgrundes am stärksten; hier ist der Gefäßring in der Regel ganz oder doch zum größten Teil gebräunt. Zur Triebspitze hin nimmt das Ausmaß der Verfärbungen ab. Es kann verhältnismäßig häufig beobachtet werden, daß diese Verbräunungen nicht von unten nach oben durchgehend vorhanden sind, sondern in oberen Partien der Stengel stellenweise fehlen und dann höher — oft nur auf einige Gefäße beschränkt — wieder erscheinen.

Das Wurzelsystem ist meistens schon auffallend in Mitleidenschaft gezogen, wenn am Sproß die ersten äußeren Symptome sichtbar werden. In den späteren

Abb. 28. *Pectobacterium parthenii* v. *dianthicola*; gestauchte Triebspitze einer kranken (rechts), Triebspitze einer gesunden Nelke (links)

Krankheitsstadien sind alle Wurzeln mehr oder weniger verfault, und auch der Stengelgrund ist dann oft naßfaul.

Triebstauchungen (Abb. 28), die Hellmers (1958) veranlaßt haben, die Krankheit „bacterial stunt of carnation" zu nennen, konnten nur in zwei der siebzehn deutschen Gärtnereien, in denen dieser Gefäßparasit nachzuweisen war, beobachtet werden, und auch in diesen jeweils nur an zwei Pflanzen. In den Infektionsversuchen trat dieses für die *Pectobacterium*-Welkekrankheit offenbar spezifische Symptom ebenfalls nur gelegentlich auf. Die Triebstauchung dürfte daher wohl zu selten sein, um als typisch für diese Tracheobakteriose gelten zu können.

b) Die *Pseudomonas*-Welkekrankheit

1. Der Erreger

Pseudomonas caryophylli (Burkholder) Starr et Burkholder

Pseudomonas caryophylli konnte im Rahmen dieser Untersuchungen nur ein einziges Mal aus welkekranken Nelken isoliert werden. Dieser Gefäßparasit kommt also in Deutschland — ebenso wie in anderen europäischen Ländern — nur selten vor.

Morphologie und Verhalten in Kultur

Ps. caryophylli ist ein häufig schwach gekrümmtes, mono-, selten bipolar begeißeltes Stäbchen (Abb. 29). In elektronenmikroskopischen Präparaten (siehe Fußnote S. 149) wurden ein bis vier Geißeln festgestellt. Diese lassen sich nach der Zettnowschen Methode, wie sie bei Stapp (1958) beschrieben ist, gut färben (Abb. 30).

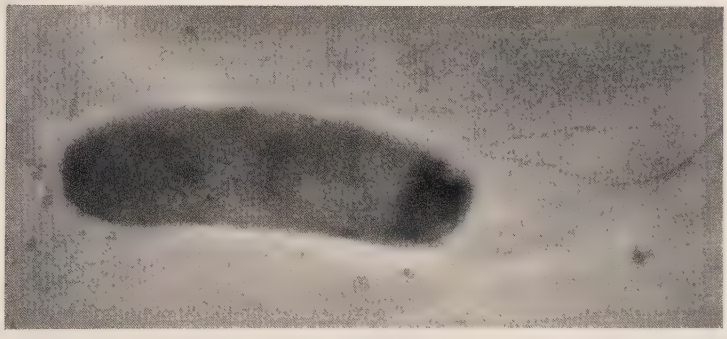


Abb. 29. *Pseudomonas caryophylli* (28 000 : 1)

Das Bakterium ist 1,1—3,4 × 0,4—0,7 μ groß. Diese Werte wurden durch Ausmessen von 100 mit Methylenblau schwach angefärbten Zellen des Stammes B 18 einer 48 Stunden alten Kartoffel-Dextrose-Agar-Kultur erhalten. Das Er-

Abb. 30. *Pseudomonas caryophylli*; (Geißelfärbung nach ZETTNOW) (1000 : 1)

gebnis stimmt mit denen von BURKHOLDER (1942), 1,05—3,18 × 0,35—0,95 μ, und HELLMERS (1958), 1,4—3,0 × 0,5—0,7 μ, gut überein.

Die *Pseudomonas*-Herkunft B 18 wurde auf verschiedenen Nährböden bei 27 °C im Brutschrank kultiviert. Die optimale Wachstumstemperatur für diesen Gefäßparasiten liegt zwischen 30 und 33 °C (HELLMERS 1958). Der untersuchte Stamm verhält sich wie folgt:

Kartoffel-Dextrose-Agar und Bierwürze-Agar

sind besonders geeignete Nährböden für dieses Bakterium; es wächst auf beiden Substraten annähernd gleich. Erst am dritten Tage nach dem Beimpfen ist Wachstum zu erkennen. Während der folgenden Tage wachsen die Kolonien sehr rasch, sehen schmutzig gelblichweiß aus, sind rund und haben einen glatten Rand. Allmählich färbt sich ihre Mitte zunächst bräunlich, später schokoladenbraun, wobei sich ein 1 bis 2 mm breiter Kolonienrand als gelblich-weißer Ring abhebt. Das Bakterium wächst gut weiter, wenn es von drei Wochen alten, bei Zimmertemperatur gehaltenen Kartoffel-Dextrose-Agar- oder Bierwürze-Agar-Kulturen auf einen frischen Nährboden übertragen wird. In einem Teil von Kartoffel-Dextrose-Agar-Kulturen, die bei 6 °C unter sterilem Paraffinöl gehalten worden waren, war der Erreger noch nach einem Jahr vermehrungsfähig.

Nähr-Agar[1])

Auf diesem Substrat wird oft schon 18 Stunden nach der Impfung Bakterienwachstum beobachtet, doch ist die sich entwickelnde Kultur meistens bereits nach fünf Tagen abgestorben; nur gelegentlich gelingt dann noch eine Übertragung auf frisches Substrat. Die entstehenden Kolonien sind bräunlichgelb, rundlich und annähernd ganzrandig.

Rohe Kartoffel- und Möhrenstücke werden nicht zersetzt.

Schwärmende Bakterien sind in Flüssigkeitskulturen nur gelegentlich zu beobachten, Kettenbildung kommt vor. Auf Kartoffel-Dextrose- und Nähr-Agar zeigt dieser Bakterienstamm die gleichen Kulturmerkmale, wie sie HELLMERS (1958) für *Ps. caryophylli* beschrieben hat.

In den durchgeführten Versuchen war *Ps. caryophylli*, wenn dieses Balterium auf frisch hergestelltem Kartoffel-Dextrose-Agar unter sterilem Paraffinöl aufbewahrt worden war, noch nach einem Jahr an Edelnelken pathogen.

[1]) Siehe Fußnote S. 120.

Milstrey et al. (1953) schlagen vor, *Ps. caryophylli* auf Nelkeninfusions-Agar unter Öl oder als lyophylisierte Kulturen aufzuheben; denn mit solchen Kulturen sind ihnen noch nach achtmonatiger Lagerzeit Infektionen gelungen, während auf anderen Nährböden gehaltene Kulturen abgestorben oder apathogen waren. Hellmers(1958) hat festgestellt, daß *Ps. caryophylli* gut ein Jahr und länger in sterilisierter, feuchter Gartenerde bei 10 °C am Leben bleibt.

Serologisches Verhalten

Auf die gleiche Weise wie bei *Pectobacterium parthenii* v. *dianthicola* wurde hier gegen den dänischen *Pseudomonas*-Stamm No. 88 ein Antiserum gewonnen. Der Titer des Serums betrug 10000. Die Ergebnisse des Agglutinationsversuches sind aus Tabelle 18 zu ersehen.

Tabelle 18

Agglutinationsversuch
Serum *Pseudomonas caryophylli* (No. 88)

Bakterienstamm	Serumverdünnung				
	1 : 5000	1 : 8000	1 : 10000	K	N 1 : 50
No. 88	+++	++	++	—	—
B 18	+++	++	++	—	—

+++ bis ++ kennzeichnen die Stärke der Agglutination.
K physiologische Kochsalzlösung.
N Normalserum

Bei den Verdünnungsstufen 1 : 50, 1 : 100, 1 : 200, 1 : 400, 1 : 800, 1 : 1000, 1 : 2000, 1 : 3000, 1 : 4000 und 1 : 5000 war die Agglutination gleich stark, erst bei Verdünnungen von 1 : 8000 und 1 : 10000 gab es eine etwas schwächere Reaktion.

Die Ergebnisse des Präzipitationsversuches (Tab. 19) fielen bei Serumverdünnungen von 1 : 10, 1 : 50, 1 : 100 positiv, hingegen bei denen von 1 : 500 und 1 : 1000 negativ aus.

Aus den vorliegenden Ergebnissen geht hervor, daß sich der in Deutschland isolierte Stamm B 18 von *Ps. caryophylli* serologisch nicht von der dänischen Herkunft (Hellmers No. 88) unterscheidet.

Die beiden Stämme B 13 und No. 98 von *Pectobacterium parthenii* v. *dianthicola*, die zum Vergleich in diese Versuche einbezogen worden waren,

Tabelle 19

Präzipitationsversuch
Serum *Pseudomonas caryophylli* (No. 88)

Bakterienstamm	Serumverdünnung					
	1 : 10	1 : 50	1 : 100	1 : 500	1 : 1000	N 1 : 10
No. 88	+	+	+	—	—	—
B 18	+	+	(+)	—	—	—

+ positiv, — negativ, N Normalserum.

wurden noch bei einer Verdünnung von 1 : 800 schwach agglutiniert. Der Präzipitationsversuch fiel jedoch negativ aus.

Pathogenität

Die Pathogenität des *Pseudomonas*-Stammes B 18 wurde in mehreren Infektionsversuchen an Edelnelken geprüft. Die Infektion erfolgte nach den beiden für *Pectobacterium parthenii* v. *dianthicola* beschriebenen Methoden (siehe oben S. 152 f.), doch wurde als Infektionsmaterial von *Ps. caryophylli* auf Kartoffel-Dextrose-Agar angezogen. Wie in den Versuchen mit *P. parthenii* v. *dianthicola* erwies sich auch hier das Tauchverfahren als besser geeignet.

Im ersten Versuch wurden am 25. November 1959 je zehn vier Monate alte Nelken der Sorte „Salmon Sim" mit den *Pseudomonas*-Stämmen B 18 und No. 88 im Tauchverfahren infiziert. Die Zahl der Kontrollpflanzen betrug zehn. Die Nelken standen während des Versuchs im Gewächshaus bei Temperaturen zwischen 21 und 29 °C, die relative Luftfeuchtigkeit schwankte zwischen 60 und 80 %.

Die ersten Krankheitssymptome traten schon nach zwei Wochen auf, nach fünf Wochen waren alle Nelken abgestorben. Die Kontrollpflanzen blieben gesund.

Ein zweiter Versuch wurde am 2. August 1960 mit den gleichen *Pseudomonas*-Herkünften und wiederum zehn Edelnelken je Versuchsglied angesetzt. In diesem Falle handelte es sich um Pflanzen der Sorte „Clear Yellow Sim". Die Gewächshaustemperatur lag zwischen 11 und 32 °C, die relative Luftfeuchtigkeit zwischen 55 und 100 %.

Die ersten Symptome waren dieses Mal später, nämlich nach sechs Wochen festzustellen, und erst nach elf Wochen waren alle 20 infizierten Nelken abgestorben. Die Kontrollpflanzen blieben gesund. Der im Vergleich zum ersten Versuch erheblich langsamere Krankheitsverlauf dürfte auf die diesmal stärkeren Temperaturschwankungen zurückzuführen sein.

Die künstlich infizierten Nelken wurden sorgfältig untersucht. Ihre Symptome stimmten mit den in der Praxis beobachteten überein. *Pseudomonas caryophylli* konnte regelmäßig reisoliert werden. Damit ist die Pathogenität des in Deutschland isolierten Stammes von *Ps. caryophylli* eindeutig nachgewiesen. Unterschiede gegenüber dem dänischen Isolat waren auch in diesen Versuchen nicht festzustellen.

2. Symptome und Verlauf der Krankheit

Die ersten äußeren Symptome der *Pseudomonas*-Welkekrankheit sind vergilbende Blätter in Stengelgrundnähe, anfangs zuweilen nur auf einer Seite der Pflanze. Die höher sitzenden Blätter werden allmählich fahlgrün und welken, verfärben sich später gelbbraun und vertrocknen.

An den Stengeln entstehen gelegentlich tiefe Platzwunden, die meistens von einem Nodium zum anderen reichen und bei hoher Luftfeuchtigkeit oft Bakterienschleim enthalten. Die durch den Riß getrennten Gewebeteile können nach außen aufklappen und das Mark des Stengels freilegen. Diese Platzwunden

kommen nach den hiesigen Erfahrungen jedoch nur selten vor. Da sie zudem auch bei den *Fusarium*-Welkekrankheiten (Abb. 17) zu beobachten, also nicht streng spezifisch sind, dürfte die von HELLMERS (1958) für die *Pseudomonas*-Welkekrankheit vorgeschlagene Bezeichnung „bacterial stem- crack of carnation" nicht zweckmäßig sein. Triebverkrüppelungen, wie sie HELLMERS beschrieben hat, waren niemals festzustellen.

Im Innern der Stengel kranker Nelken sind von einem wässerigen Hof umgebene Verbräunungen zu erkennen (Abbildung 31), die auch hier meistens nicht auf die Gefäßpartien beschränkt bleiben. Sie sind unten am stärksten ausgeprägt und nehmen zur Triebspitze hin ab. Auf Querschnitten durch untere Stengelpartien ist der Gefäßbündelring dementsprechend ganz oder zum größten Teil verfärbt, während auf Querschnitten durch höhere Stengelteile oft nur noch einzelne punktartige Verfärbungen sichtbar sind. Neben diesen Verfärbungen treten in den Stengeln von *Ps. caryophylli* befallener Nelken meistens verhältnismäßig große, mit einer milchigweißen Bakterienmasse gefüllte Hohlräume auf (Abb. 31), deren Inhalt an Schnittstellen hervorquillt, wenn man auf den durchgeschnittenen Stengel einen stärkeren Druck ausübt. Hohlräume dieser Art wurden während der hier durchgeführten Untersuchungen bei keiner anderen Welkekrankheit der Nelke gefunden.

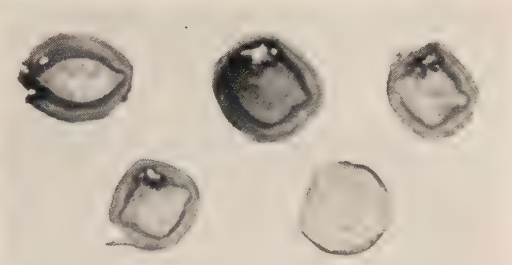


Abb. 31. *Pseudomonas caryophylli*; Querschnitte durch Stengel kranker und (unten rechts) gesunder Pflanzen

Das Wurzelwerk ist, wie bei *Pectobacterium*-Befall, schon im frühen Stadium der Erkrankung verhältnismäßig stark geschädigt und fast völlig verfault, wenn die oberirdischen Pflanzenteile welken. Auch der Stengelgrund ist dann häufig bereits in Naßfäule übergegangen.

D. DISKUSSION

In Deutschland war es seit Jahrzehnten üblich, Welke- und Absterbeerscheinungen der Edelnelken — in der Regel ohne zwischen Stengelgrundfäulen und „echten" Welkekrankheiten zu unterscheiden — schlechthin als *Fusarium*-Welke zu bezeichnen. Dies mag darauf zurückzuführen sein, daß *Fusarium dianthi* (= *F. oxysporum* f. *dianthi*) 30 Jahre lang der einzige an dieser Pflanze bekannte Welkeerreger war und außerdem die verschiedensten Fusarien an kranken Nelken häufig vorkommen und schon bei oberflächlicher Untersuchung leicht erfaßt werden. Die Ergebnisse des ersten Teiles dieser Arbeit (siehe oben, S. 120 bis 122) zeigen jedoch, daß das sogenannte Nelkensterben auch in Deutschland keinesfalls nur auf *Fusarium*-Befall zurückzuführen ist, vielmehr kommen alle in der Literatur in diesem Zusammenhang als Erreger genannten Pilze und Bakterien vor.

Unter diesen spielen Erreger von Stengelgrundfäulen in Deutschland nur eine vergleichsweise geringe Rolle. Sie wurden deshalb hier nicht im einzelnen bearbeitet.

Von den in ihrer Gesamtheit wirtschaftlich bei weitem wichtigeren gefäßparasitären Welkeerregern hat *Phialophora cinerescens* mit Abstand die größte Bedeutung. An zweiter Stelle ist *Pectobacterium parthenii* v. *dianthicola* zu nennen. Dagegen sind *Fusarium oxysporum* f. *dianthi*, *Fusarium redolens* f. *dianthi*, *Rhizoctonia solani* (Gefäßparasit!) und *Pseudomonas caryophylli* verhältnismäßig selten (Abb. 11). Diese Befunde, die erstmals klare Vorstellungen über die bei uns vorkommenden Welkekrankheiten der Edelnelke und ihre Ursachen ermöglichen, zeigen, daß die Verhältnisse in Deutschland nicht grundsätzlich von denen in anderen westeuropäischen Ländern verschieden sind.

Von den sechs genannten Gefäßparasiten wurden *Phialophora cinerescens*, *Pectobacterium parthenii* v. *dianthicola* und *Pseudomonas caryophylli* durch die hier vorgelegten Untersuchungen zum ersten Male für Deutschland als Welkeerreger der Nelken eindeutig nachgewiesen. Für *Fusarium oxysporum* f. *dianthi* und *Fusarium redolens* f. *dianthi* konnten die kürzlich von GERLACH und PAG (1961) mitgeteilten Befunde bestätigt werden. Daß bestimmte Stämme von *Rhizoctonia solani*, wie hier gezeigt wurde, als gefäßparasitäre Welkeerreger an Edelnelken auftreten können, war, soweit aus der Literatur zu ersehen, bisher noch nicht bekannt. An weiteren interessanten Feststellungen sind zu nennen: Das Auftreten von *Phialophora cinerescens* und *Fusarium oxysporum* f. *dianthi an* Remontant-Nelken im Freiland, das Vorkommen, das bisher nur in Berlin nachgewiesenen *Fusarium redolens* f. *dianthi* in West-Deutschland, sowie die Tatsache, daß mehrere der genannten Welkeerreger zwar in einer Gärtnerei, jedoch niemals in ein und derselben Pflanze nachzuweisen waren.

Da in Deutschland demnach mit sechs verschiedenen Gefäßparasiten der Edelnelke zu rechnen ist, stellt sich die Frage, ob und wie sich die von ihnen hervorgerufenen Welkekrankheiten an Hand ihrer Symptome unterscheiden lassen. Unter diesem Gesichtswinkel sind die Befunde der eingehenden symptomatologischen Untersuchungen, soweit sie diagnostisch wertvoll sein können, im folgenden zusammengestellt.

An erster Stelle sind diejenigen Symptome zu nennen, die jeweils nur bei einer einzigen Welkekrankheit vorkommen, also spezifisch sind:

Trockene, faserartige Beschaffenheit des Stengelinnern (Abb. 19)	→ *Fusarium*-Welkekrankheiten
Flecke an den Blättern (Abb. 13)	→ *Phialophora*-Welkekrankheit
Mit Bakterienschleim gefüllte Hohlräume im Stengel (Abb. 31)	→ *Pseudomonas*-Welkekrankheit
Gestauchte Triebspitzen (Abb. 28)	→ *Pectobacterium*-Welkekrankheit

Von diesen Symptomen treten die für die *Fusarium*-Welkekrankheiten und die *Phialophora*-Welkekrankheit genannten regelmäßig und das für die *Pseudomonas*-Welkekrankheit genannte verhältnismäßig häufig auf. Dagegen sind die gestauchten Triebspitzen bei der *Pectobacterium*-Welkekrankheit zu selten, um als typisch gelten zu können.

Daneben gibt es Merkmale, die zwar bei mehreren, aber nicht bei allen Welkekrankheiten vorkommen.

Einseitige Welke und horizontal wachsende Triebspitze (Abb. 16)	→ *Fusarium*-Welkekrankheiten und *Phialophora*-Welkekrankheit
Nicht fleckenartige, bläulich-violette Verfärbungen an den Blättern	→ *Phialophora*-Welkekrankheit (mit Ausnahme gelbblühender Sorten), aber auch *Fusarium*-Welkekrankheiten
Platzwunden am Stengel (Abb. 17)	→ *Pseudomonas*-Welkekrankheit und *Fusarium*-Welkekrankheiten
Lange Zeit äußerlich gesund aussehender Stengelgrund (Abb. 22)	→ *Rhizoctonia*- und *Phialophora*-Welkekrankheit, aber auch *Fusarium*-Welkekrankheiten
Längere Zeit nur wenige faulende Wurzeln (Abb. 2)	→ *Phialophora*-Welkekrankheit und *Fusarium*-Welkekrankheiten

Ein Symptom dieser Gruppe weist also nicht auf eine einzelne Krankheit hin, schränkt aber die Zahl der gegebenen Möglichkeiten ein. Das gemeinsame Auftreten von zweien oder mehreren solcher Merkmale kann jedoch Rückschlüsse auf eine Welkekrankheit zulassen.

Grundsätzlich besteht also die Möglichkeit, die Welkekrankheiten der Edelnelke allein nach ihren Symptomen zu unterscheiden. Dazu muß allerdings einschränkend gesagt werden, daß dies einen geübten Blick und ein beträchtliches Maß an Erfahrung voraussetzt. Außerdem ist eine genügend große Anzahl kranker Pflanzen in geeigneten, und zwar möglichst verschiedenen Befallsstadien erforderlich; denn in den Endstadien sind die Bilder bei allen Welkekrankheiten praktisch gleich, ja oft nicht einmal von den durch Stengelgrundfäulen verursachten zu trennen. Bei der Beurteilung der obengenannten Symptome am Stengelgrund und an den Wurzeln welkekranker Nelken ist ferner zu berücksichtigen, daß sekundär auftretende Stengelgrundfäuleerreger an diesen Pflanzenteilen ebenfalls Fäulen hervorrufen können. Praktisch dürfte es daher nicht allzu häufig möglich sein, eine sichere Diagnose allein nach den Symptomen zu stellen.

Nicht zuletzt deshalb erscheint es unzweckmäßig, die Welkekrankheiten der Edelnelke nach einzelnen Symptomen zu benennen („bacterial stem-crack of carnation", „bacterial stunt of carnation" [Hellmers 1958]; „white-vessel-

fusariosis of carnation" [HELLMERS 1960]). Die in der vorliegenden Arbeit verwendeten Bezeichnungen, die den Namen des jeweiligen Erregers in den Vordergrund stellen und mit dem übergeordneten Begriff „Welkekrankheit" verbinden, dürften unmißverständlich und deshalb vorzuziehen sein.

In allen denjenigen Fällen, in denen eine allein auf den Symptomen beruhende Diagnose nicht möglich oder nicht sicher genug ist, kann auf Isolierungsversuche nicht verzichtet werden. Wie die Abbildungen 5 bis 10 zeigen, bilden die sechs Gefäßparasiten der Edelnelke auf Bierwürze-Agar schon nach wenigen Tagen recht verschiedene, charakteristische Kolonien. Die für eine Bestimmung wichtigen Merkmale der einzelnen Welkeerreger sind in den betreffenden Abschnitten ausführlich dargelegt worden.

Bei routinemäßigen diagnostischen Untersuchungen, wie sie in Deutschland z. B. an den Pflanzenschutzämtern durchgeführt werden, muß man sich zwangsläufig wohl meistens mit der Bestimmung — oft vielleicht nur einer recht oberflächlichen — der isolierten Organismen begnügen. Es ist jedoch nachdrücklich darauf hinzuweisen, daß nur bei *Phialophora cinerescens* die Isolierung und Bestimmung zugleich auch eine sichere Aussage über den Erreger zuläßt; denn bisher haben sich alle Herkünfte dieses Pilzes, die man geprüft hat, als Welkeerreger der Edelnelke erwiesen. Dagegen muß ein Organismus, der morphologisch mit einem der fünf anderen Gefäßparasiten übereinstimmt, noch keineswegs der Erreger sein. Denn selbst bei gezielten Isolierungsversuchen ist damit zu rechnen, daß Stämme von *Fusarium oxysporum*, *Fusarium redolens* und *Rhizoctonia solani* sowie von *Pectobacterium* und *Pseudomonas* erhalten werden, die an Nelken apathogen sind oder allenfalls Stengelgrund- und Wurzelfäulen hervorrufen können. Hier reichen also selbst Isolierung und Bestimmung noch nicht zum Nachweis des Erregers aus.

Daß eine *Fusarium-*, die *Rhizoctonia-*, die *Pectobacterium-* oder die *Pseudomonas*-Welkekrankheit vorliegt, läßt sich daher mit Sicherheit erst sagen, wenn für die als Erreger betrachteten Pilze und Bakterien der Nachweis der Pathogenität im Infektionsversuch an Edelnelken erbracht worden ist.

Zusammenfassung

1. Welke- und Absterbeerscheinungen der Edelnelke, die im allgemeinen als „Nelkensterben" bezeichnet werden, verursachen in deutschen Gärtnereien regelmäßig beträchtliche Verluste. Die noch ungeklärte Frage, welche Erreger an dem sogenannten Nelkensterben in Deutschland beteiligt sind, wird an Hand von Proben aus 95 westdeutschen und Berliner Gärtnereien untersucht. Erreger von Stengelgrundfäulen spielen nur eine vergleichsweise geringe Rolle. Gefäßparasitäre Welkeerreger sind wirtschaftlich bei weitem wichtiger.

2. Das Vorkommen von zwei *Fusarium*-Welkekrankheiten (*Fusarium oxysporum* Schl. f. *dianthi* [Prill. et Del.] Snyder et Hansen sowie *Fusarium redolens* Wr. f. *dianthi* Gerlach) in Deutschland wird bestätigt. Die *Phialophora*-Welkekrankheit (*Phialophora cinerescens* [Wr.] van Beyma), die *Pecto-*

bacterium-Welkekrankheit (*Pectobacterium parthenii* [Starr] Hellmers v. *dianthicola* Hellmers) und die *Pseudomonas*-Welkekrankheit (*Pseudomonas caryophylli* [Burk.] Starr et Burkholder) werden für Deutschland erstmalig eindeutig nachgewiesen; die *Rhizoctonia*-Welkekrankheit (*Rhizoctonia solani* Kühn) wird als neue Krankheit beschrieben.

3. Von den gefäßparasitären Welkeerregern hat in Deutschland *Phialophora cinerescens* mit Abstand die größte Bedeutung. *Pectobacterium parthenii* v. *dianthicola* kommt verhältnismäßig häufig vor. *Fusarium oxysporum* f. *dianthi*, *Fusarium redolens* f. *dianthi*, *Rhizoctonia solani* und *Pseudomonas caryophylli* sind selten.

4. Die sechs Gefäßparasiten werden eingehend beschrieben; ihre systematische Stellung wird diskutiert; ihre Pathogenität wird durch Infektionsversuche und Reisolierungen nachgewiesen.

5. Für jede Welkekrankheit werden die Symptome und der Verlauf geschildert. Die diagnostisch wertvollen Merkmale sind in einer Übersicht zusammengestellt.

6. Die für einen sicheren Nachweis der einzelnen Welkeerreger erforderlichen Voraussetzungen werden erörtert.

Summary

1. Wilt and rotting phenomena in the garden carnation, commonly known as "wilt rot", regularly cause considerable losses in German nurseries. The hitherto unsolved question as to which organisms are responsible for the so-called wilt rot in Germany was studied on the basis of 95 samples from nurseries in West Germany and Berlin. Organisms causing rotting of the stem base play a relatively minor role. Wilt pathogens of the vascular bundles are in practice much more important.

2. The occurrence of two *Fusarium* wilt diseases (*Fusarium oxysporum* Schl. f. *dianthi* [Prill. et Del.] Snyder et Hansen and *Fusarium redolens* Wr. f. *dianthi* Gerlach) in Germany is confirmed. The *Phialophora* wilt disease (*Phialophora cinerescens* [Wr.] van Beyma), the *Pectobacterium* wilt disease (*Pectobacterium parthenii* [Starr] Hellmers v. *dianthicola* Hellmers) and the *Pseudomonas* wilt disease (*Pseudomonas caryophylli* [Burk.] Starr et Burkholder) are demonstrated conclusively for Germany for the first time; the *Rhizoctonia* wilt disease (*Rhizoctonia solani* Kühn) is described as a new disease.

3. Of the wilt organisms of the vascular bundles, *Phialophora cinerescens* is incomparably the most important. *Pectobacterium parthenii* v. *dianthicola* occurs relatively frequently. *Fusarium oxysporum* f. *dianthi*, *Fusarium redolens* f. *dianthi*, *Rhizoctonia solani* and *Pseudomonas caryophylli* are rare.

4. The six vascular parasites are described in detail; their systematic position is discussed; their pathogenicity is demonstrated by infection tests and reisolation.

5. The symptoms and the course of development are described for each wilt disease. The characters of diagnostic importance are summarized in tabular form.

6. The necessary conditions for demonstrating the presence of the indi vidual wilt organisms are discussed.

Literaturverzeichnis

ANDREUCCI, E., 1958: Indagini su una grave alterazione del Garofano prodotta da *Fusarium roseum* (Lk.) Snyder et Hansen. Nuovo Giorn. bot. ital. **65**, 163—195.

*— —, 1959: Un avvizzimento dei germogli del Garofano prodotto da '*Phytophthora palmivora*' Butl. Riv. Ortoflorofruttic. ital. **43**, 1—11.

APPEL, O., und H. W. WOLLENWEBER, 1910: Die Kultur als Grundlage zur besseren Unterscheidung systematisch schwieriger Hyphomyceten. Ber. Dtsch. Bot. Ges. **28**, 435—448.

ARMSTRONG, J. K., and G. M. ARMSTRONG, 1953: *Caryophyllaceae* susceptible to the Carnation-wilt *Fusarium*. Phytopathology **43**, 465 (Abstr.).

— —, and — —, 1954: *Caryophyllaceae* susceptible to the Carnation-wilt *Fusarium*. Phytophathology **44**, 275—276.

BAKER, R., 1957: The height of invasion of two pathogens in Carnation stems. Phytopathology **47**, 516 (Abstr.).

BAKKER, M., 1957: Bacterieverwelkingsziekten van Anjers. T. Plantenziekten **63**, 20—21.

— —, en G. SCHOLTEN, 1955: Een bacterie-verwelkingsziekte in Amerikaanse Anjers. T. Plantenziekten **61**, 7—10.

BICKERTON, J. M., 1942: *Fusarium* wilt of Carnations caused by *Fusarium dianthi* Prill. et Del. Bull. Cornell agric. Exp. Sta. **788**, 1—31.

*BONGINI, V., 1930: Cancro pedale dei Garofani (*Fusarium dianthi* Prill. et Del.). La Difesa delle Piante **7**, 6—8.

BRAUN, H., 1930: Der Wurzeltöter der Kartoffel, *Rhizoctonia solani* K. Monographien z. Pflanzenschutz **5**, Verlag J. Springer Berlin, 136 S.

BROWN, W., 1938: Stem-rot and wilt of the perpetual flowering Carnation. Sci. Hortic. **6**, 93—96.

BURKHOLDER, W. H., 1942: Three bacterial plant pathogens: *Phytomonas caryophylli* sp. n., *Phytomonas alliicola* sp. n., and *Phytomonas manihotis* (Arthaud-Berhet et Bondar) Viegas. Phytopathology **32**, 141—149.

— —, L. A. MCFADDEN, and E. W. DIMOCK, 1953: A bacterial blight of Chrysanthemums. Phytopathology **43**, 522—526.

*CALVINO, E. M., 1937: "Mal della rama" e "mal del coletto" del Garofano. Costa Azzur. Agric. Flor. **17**, 72—74.

CAMICI, L., 1948: *Rhizoctonia solani* Kühn e correlazioni tra fattori parassitari e non parassitari nel "deperimento dei Garofani" della Riviera Ligure. Ann. Sperim. agr., Roma, **2**, 653—669.

*CARRERA, C. M., 1940: El genero "*Fusarium*" en la Republica Argentina. Estudio y classificacion sistematica (segunda contribucion). Rev. argent. Agron. **7**, 277—296.

*— —, 1941: La presencia de '*Fusarium scirpi* v. *acuminatum*' en la Republica Argentina. Rev. argent. Agron. **7**, 89—94.

*CORNELI, E., 1934: Temperature di germinazione di spore fungine in relazione alle infezioni sugli ospiti. Nuovo Giorn. bot. ital. **41**, 121—133.

Creager, D. B., 1942: Carnations attacked by wilt on coast and midwest. Florists' Rev., Chicago, **91**, 13—15. Biol. Abstr. **17**, 1943, 1089—1090.

*Cunningham, G. H., 1931: Additions to the recorded plant diseases of New Zealand. New Zealand J. Agric. **42**, 305—306.

Delacroix, G., 1900: Sur la maladie des Oeillets produite par le *Fusarium dianthi* Prill. et Del. Compt. rend. Acad. Sci. **131**, 961—963.

Dowson, W. J., 1929: On the stem rot or wilt disease of Carnations. Ann. appl. Biol. **16**, 261—280.

*Durrell, L. W., 1931: Report of the Botanist. Forty-fourth Ann. Rept. Colorado Agric. Exper. Stat. for the fiscal year 1930—1931, 25—31.

Esmarch, F., 1928: Schwindsucht der Nelke. Kranke Pflanze, Dresden, **5**, 115.

*Frezzi, M. J., 1950: Las especies de '*Phytophthora*' en la Argentina. Rev. Invest. agríc., Buenos Aires, **4**, 47—133.

Fron, G., 1936: La maladie de la fusariose des Oeillets. Rev. Path. vég., Ent. agric. France **23**, 131—144.

Gerlach, W., 1954: Untersuchungen über die Welkekrankheit des Alpenveilchens. Phytopath. Z. **22**, 125—176.

— —, 1961: *Fusarium redolens* Wr., seine Morphologie und systematische Stellung. Ein Beitrag zur Kenntnis der *Elegans*-Fusarien. Phytopath. Z. **42**, 150—160.

— —, und H. Pag, 1961: *Fusarium redolens* Wr., seine phytopathologische Bedeutung und das Auftreten einer auf *Dianthus*-Arten spezialisierten Form. Phytopath. Z. **42**, 349—361.

— —, W. Sauthoff, und H. Pag, 1958: Untersuchungen über die *Fusarium*-Welke an *Aechmea fasciata* (Lindl.) Bak. Phytopath. Z. **32**, 416—432.

Guba, E. F., 1945: Carnation wilt diseases and their control. Bull. Mass. agric. Exp. Stat. 427, 64 S.

*— —, 1947: Annual Report of the Massachusetts Agricultural Experiment Station for the fiscal year ending 30th June 1947. Bull. 441, 72 S.

— —, and R. W. Ames, 1953: Infectious diseases of Carnation. Plant Diseases the yearbook of agriculture 1953, 583—592.

*Haigh, J. C., 1931: Report on the work of the Mycological Division. Ceylon Administration Report of the Director of Agric. for 1930, 65—70.

Hantschke, D., 1960: Welche Welkekrankheiten an Nelken kommen in Deutschland vor? Gartenwelt **60**, 3.

Hellmers, E., 1958: Four wilt diseases of perpetual-flowering Carnations in Denmark. Dansk. bot. Ark. **18**, 200 S.

— —, 1960: Nellikens rodhalsfusariose, stabfusariose og hvidkarfusariose som årsager til nedvisning of drivhusnelliker. Horticultura **14**, 89—128.

Hood, J. R., and R. N. Stewart, 1957: Factors affecting symptom expression in *Fusarium* wilt of *Dianthus*. Phytopathology **47**, 173—178.

Jenkins, J. E. E., 1959: Methods for the detection of vascular wilt pathogens in Carnation cuttings. Plant Path., Harpenden **8**, 23—27.

Jones, L. K., 1941: Bacterial wilt of Carnation. Phytopathology **31**, 199.

Lelliott, R. A., 1956: Slow wilt of Carnations caused by a species of *Erwinia*. Plant Path., Harpenden **5**, 19—23.

Lembach, K., und H. Sous, 1948: Geißelfärbung nach Sous. Zbl. Bakt., I. Abt., **152**, 445—447.

Linnasalmi, A., 1952: Damping-off on herbaceous vegetables and ornamental plants grown under glass in Finland. Ann. bot. Soc. zool.-bot. fenn. „Vanamo" **26**, 1—20.

Luxem, K. P., 1960: Der Anbau von Blumen und Zierpflanzen 1960. Deutsche Gärtnerbörse **60**, 409—411.

MANGIN, L., 1899: Sur une maladie nouvelle des Oeillets. Compt. rend. Acad. Sci. **129**, 731—734.

— —, 1900: Sur la maladie des Oeillets à Antibes. Compt. rend. Soc. Biol., Paris, **52**, 248—251.

MCCOLLOCH, L. P., 1944: A study of the apple rot fungus *Phialophora malorum*. Mycologia, Lancaster, **36**, 576—590.

MEDLAR, E. M., 1915: A new fungus, *Phialophora verrucosa*, pathogenic for man. Mycologia, Lancaster, **7**, 200—203.

MEYER, K. H., 1934: Zwei Würgeengel im Nelkenbeet. Prakt. Ratgeber Obst-, Gartenbau **49**, 478—479.

MILSTREY, R. A., R. N. STEWART, and W. F. JEFFERS, 1953: Retention of virulence of lyophylized cultures of *Pseudomonas caryophylli*. Phytopathology **43**, 406.

MOREAU, C., et M. MOREAU, 1956: Alliances et antagonismes entre champignons. Leur intérêt pour la compréhension de certains problèmes phytopathologiques. Bull. Soc. mycol. France **72**, 250—253.

MOREAU, M., 1953 a: Les maladies de dépérissement des Oeillets dans la region de Nice. Rev. hortic., Paris, **125**, 907—909.

— —, 1953 b: La fusariose de L'Oeillet dans la region parisienne. Rev. hortic., Paris, **125**, 930—932.

— —, 1957: Le dépérissement des Oeillets. Encycl. mycol., Paris, **30**, 308 S.

MÜCKE, 1959: Die Nelkenkultur in Westeuropa. Gartenwelt **59**, 255—256 u. 274—275.

*MURAKISHI, H., and J. W. HENDRIX, 1950: The effect of growth substances and fungicides on the rooting and survival of Carnation cuttings grown in naturally infested soil. Proc. amer. Soc. hortic. Sci. **56**, 485—490.

NOORDAM, D., 1948: Vaatziektebestrijding in Amerikaanse Anjers. Meded. Dir. Tuinbouw, Wageningen, **11**, 444—448.

— —, 1950: Enkele ziekten in Amerikaanse Anjers. Meded. Dir. Tuinbouw, Wageningen, **13**, 703—716.

*PESANTE, A., 1958: La fialoforosi del Garofano nella Riviera dei Fiori (Liguria Occidentale). Boll. Lab. sper. Fitop. Torino, **21**, 85—109.

*— —, 1959: Sopra una tracheomicosi da *Rhizoctonia* del Garofano. Reprinted from Atti Accad., Torino **93** (1958—1959), 6 S.

PRILLIEUX, E., et G. DELACROIX, 1899: La maladie des Oeillets à Antibes. Compt. rend. Acad. Sci. **129**, 744—745.

REDLIN, W. J., 1961: Die marktwirtschaftliche Bedeutung der Edelnelke. Gartenwelt **61**, 161—162.

RICHTER, H., und R. SCHNEIDER, 1953: Untersuchungen zur morphologischen und biologischen Differenzierung von *Rhizoctonia solani* K. Phytopath. Z. **20**, 167—226.

ROBINSON, J. A., 1957: Control of Carnation diseases in New Zealand. New Zealand Pl. Gdns. **2**, 212—218.

ROLL-HANSEN, F., 1949: Investigation of *Fusarium* cultivated plants in Norway. Meld. Norges Landbr. høgsk., (Sci. Repts. agric. Coll. Norway), Oslo, **29**, 257—264.

ROODENBURG, J. W. M., 1945: Vaat- en voetziekten in Amerikaanse Anjers. T. Plantenziekten **1**, 16—24.

SAREJANNI, J. A., 1952: Un *Phytophthora* du collet des Oeillets. Ann. Inst. phytopath. Benaki **6**, 32—36.

SCHALT, W., 1960: Der Schnittblumenanbau in Westberlin. Gartenwelt **60**, 21—23.

SCHNEIDER, E. O., and W. S. BEACH, 1950: Science for the farmer. Rept. Pa. agric. Exp. Stat. 1949—1950, Bull. 529, 60 S.

Schneider, R., 1958 a: Untersuchungen über Variabilität und Taxonomie von *Fusarium avenaceum* (Fr.) Sacc. Phytopath. Z. **32**, 95—126.

— —, 1958 b: Untersuchungen über Variation und Pathogenität von *Fusarium avenaceum* (Fr.) Sacc. Phytopath. Z. **32**, 129—148.

*Sibilia, C., 1957: Rassegna dei casi fitopatologici piu notevoli osservati nel 1955. Boll. Staz. Pat. veg., Roma, 3 (1956), 153—174.

Snyder, W. C., 1941: *Fusarium* wilt of sweet william (*Dianthus barbatus*). Phytopathology **31**, 1054—1056.

— —, and H. N. Hansen, 1940: The species concept in *Fusarium*. Amer. J. Bot. **27**, 64—67.

— —, and — —, 1945: The species concept in *Fusarium* with reference to *Discolor* and other sections. Amer. J. Bot. **32**, 657—666.

Stahl, M., 1955: Eine neue eingeschleppte Bakteriose der Edelnelke. Pflanzenschutz, München **7**, 119—120.

— —, 1958: Erfahrungen mit der Stecklingsprüfung bei Nelke und Chrysantheme. Gartenwelt **58**, 152—153.

Stapp, C., 1958: Pflanzenpathogene Bakterien. Verlag Paul Parey, Berlin u. Hamburg, 260 S.

Starr, M. P., and W. H. Burkholder, 1942: Lipolytic activity of phytopathogenic bacteria determined by means of spirit blue agar and its taxonomic significance. Phytopathology **32**, 598—604.

Stewart, F. C., 1899: The stem rot disease of the Carnation. Bot. Gaz., Chicago, **27**, 128—130.

Sturgis, W. G., 1898: Preliminary investigations on a disease of Carnations. Rep. Conn. agri. Exp. Sta. **3**, 175—181, in Ann. appl. Biol. **22**, 630—683, Wickens, G. M., 1935.

Tammen, J., 1958: Pathogenicity of *Fusarium roseum* to Carnation and to wheat. Phytopathology **48**, 423—426.

*Thomas, W. D., 1948: The control of *Fusarium* root rot and bacterial wilt of Carnations by antibiotic fungi. J. Colorado-Wyoming Acad. Sci. **3**, 39.

*— —, and R. R. Baker, 1950: The Carnation as a carrier of wilt-producing Fusaria. J. Colorado-Wyoming Acad. Sci. **4**, 60—61.

Van Beyma Thoe Kingma, F. H., 1940: Über einige Formen von *Verticillium dahliae* Klebahn. Antonie van Leeuwenhoek, J. Microbiol., Serol., **6**, 34—37.

*Verona, O., 1932: Sul marciume del colletto dei Garofani. Boll. R. Ist. sup. agr. Pisa **8**, 451—455.

*Wager, V. A., 1931: The *Rhizoctonia* disease of potatoes. Farming South. Afr. **6**, 97—98.

Wasscher, J., 1959: Ontwikkling van de anjerteelt in West-Europa. Vakbl. Bloemisterij **14**, 81 u. 84—85.

Weil, B., 1959: Über die Bedeutung des Untergrundes als Reservoir für phytopathogene Pilze nach Entseuchungsmaßnahmen. Mitt. Biol. Bundesanst., Berlin-Dahlem, **97**, 107—108.

White, H. L., 1936 a: A survey of Carnation "stem rot" diseases, 1925—1935. Rept. expt. Res. Stat. Cheshunt, 1935, **21**, 43—46.

— —, 1936 b: *Verticillium* wilt of the Carnation. Rept. expt. Res. Stat. Cheshunt, 1935, **21**, 46—50.

— —, 1936 c: On *Verticillium* wilt of the perpetual-flowering Carnation. J. Pomol., hortic. Sci **14**, 216—226.

— —, 1938: Stem rot and wilt of the perpetual-flowering Carnation. Sci. Hortic., **6**, 86—92.

Wickens, G. M., 1935: Wilt, stem rot, and dieback of the perpetual flowering Carnation. Ann. appl. Biol. **22**, 630—683.

*Wijers, E. E., 1937: *Phytophthora* wilt in Carnation plants. South afr. J. Sci. **34**, 194—213.

*Williams, P. H., E. Oyler, H. L. White, G. C. Ainsworth, and I. W. Selman, 1940: Plant diseases. Rept. expt. Res. Stat. Cheshunt, 1939, 28—38.

Wollenweber, H. W., 1913: Studies on the *Fusarium* problem. Phytopathology **3**, 29—30.

— —, 1929: Die Wirtelpilz-Welkekrankheit (Verticilliose) von Ulme, Ahorn und Linde usw. Arb. Biol. Reichsanst. **16**, 283—324.

— —, 1931: *Fusarium*-Monographie, Fungi parasitici et saprophytici. Z. Parasitenkd. **3**, 269—516.

— —, 1943: *Fusarium*-Monographie II. Zbl. Bakt., II. Abt., **106**, 104—135 u. 171—202.

— —, und O. A. Reinking, 1935: Die Fusarien. Verlag Paul Parey, Berlin, 355 S.

*Zimmermann, F., 1924: Dvé choroby skenikovych Karafiátu. Ochrana Rostlin, Praha, **4**, 8—10.

Die mit * gekennzeichneten Arbeiten lagen nur als Referat vor.

Aus dem College of Agriculture and Research Institute, Potchefstroom, Republic of South Africa

Das Schicksal von Antibiotika in Tomatenpflanzen

III. Beeinflussung der Antibiotikaaufnahme durch Wuchsstoffe

Von

W. Krüger [1])

Einleitung

Bei der Applikation von Antibiotika auf die Blätter mit dem Ziele, eine systemische Wirkung gegen phytopathogene Organismen zu erreichen, konnte die Antibiotikaaufnahme durch den Zusatz von Glyzerin und einigen Wuchsstoffen gesteigert werden (Iyengar und Starkey 1953, Goodman und Hemphill 1954, Lesser 1954, Hemphill und Goodman 1955, Philips 1955, McNew 1956, Gray 1955, 1956, Goodman und Dowler 1957, 1958). Die Wirkung des Glyzerins und anderer Polyhydroxy-Verbindungen wird der Verhinderung des schnellen Antrocknens der Spritzflüssigkeit zugeschrieben, wodurch den Antibiotika ein besseres Eindringen in die Blätter möglich ist. In welcher Weise die Wuchsstoffe wirken, ist noch nicht eindeutig erkannt worden. Sehr wahrscheinlich erhöhen sie den Stoffwechsel und fördern dadurch eine Absorption (Hemphill und Goodman 1955, Goodman und Dowler 1957).

Wieweit Wuchsstoffe die Absorption von Antibiotika durch die Wurzeln beeinflussen, war Gegenstand der folgenden Untersuchungen. Glyzerin wurde in die Prüfung nicht einbezogen, da zu erwarten war, daß sich dessen Wirkung bei dieser Form der Anwendung über die Wurzeln nicht entfalten würde.

Sollten die Wuchsstoffe infolge Steigerung der Wasseraufnahme oder des Stoffwechsels die Antibiotikaaufnahme erhöhen, so wäre es möglich, die Konzentration zu vermindern. Dieses ist zu begrüßen, weil Antibiotika die Tendenz zur Phytotoxizität besitzen, wie u. a. Gäumann, Neaf-Roth, Reusser und Ammann (1952) für einige Antibiotika demonstrierten.

[1]) Anschrift des Verfassers: College of Agriculture, Potchefstroom, Republic of South Africa.

Methoden

In einem einleitenden Versuch wurde der Einfluß der Wuchsstoffe auf die Wasseraufnahme der Tomatenpflanzen geprüft. Toxische Konzentrationen konnten hierdurch eliminiert und solche verwendet werden, die entweder ohne Einfluß waren oder die Wasseraufnahme sogar zu fördern schienen.

Da die verwendeten Wuchsstoffe in Wasser unlöslich waren, wurden sie in organischen Lösungsmitteln gelöst. Die Quantität der Lösungsmittel wurde so bemessen, daß sie selbst keine Wirkung auf die Wasseraufnahme hatten und auch sonst keine nachteiligen Folgen zu haben schienen. Folgende Substanzen wurden verwendet:

Wuchsstoffe:	Lösungsmittel:
β-Indolylessigsäure	Pyridin
Naphthalenacetamid	Dimethylformamid
Naphthalenessigsäure	Dimethylformamid
Gibberellinsäure	Aceton

Die Behandlung der Tomaten erfolgte durch sechsstündiges Tauchen ihrer Wurzeln in die Lösungen; je Pflanze wurden 10 ml Flüssigkeit verwendet. Es wurden das allgemein gebräuchliche Streptomycin-sulfat sowie Novobiocin und Vancomycin als Antibiotika ausgewählt. Die zuletzt genannten Antibiotika hatten in Freilandversuchen einen guten Effekt gegen *Corynebacterium michiganense* gezeigt (KRÜGER 1959, 1961 a).

Nach der Behandlung wurden die Tomaten wieder eingetopft und drei Tage später analysiert. Die Konzentration der Antibiotika und deren Kombinationen mit den Wuchsstoffen wurde biologisch mit der Lochmethode bestimmt. Die Basis für die Berechnung bildete eine bestimmte Aktivität des Saftes. Diese Aktivität kann von dem Antibiotikum alleine herrühren, und dann ist der Ausdruck „Konzentration" berechtigt, oder aber die Aktivität ist das Produkt des Zusammenwirkens von Antibiotikum und Wuchsstoff, wobei Synergismus eine Rolle spielen kann. In den dargelegten Resultaten wird aber die gemessene Aktivität als von dem Antibiotikum stammend angenommen, weil in Standardreihen das Beschicken des Saftes mit Streptomycin und Wuchsstoffen die Aktivität nicht steigerte.

Einzelheiten der biologischen Prüfung können aus früheren Arbeiten entnommen werden (KRÜGER 1959, 1961 b, c). *Sarcina lutea* wurde als Testorganismus für Vancomycin und Novobiocin, *E. coli* / Typ III für Streptomycin gewählt. Die gebildeten Hemmradien wurden in die entsprechende Konzentration in E (γ)/ml umgerechnet, weil dadurch ein besserer Vergleich erreicht werden kann.

Ergebnisse

Folgende Konzentrationen bzw. Hemmradien konnten für die einzelnen Antibiotika in den verschiedenen Pflanzenteilen (Wurzeln, Stengel, Blätter) analysiert bzw. gemessen werden (Tab.).

Tabelle

Wirkung von Wuchsstoffen auf die Aufnahme von Antibiotika durch Tomatenpflanzen*)

Behandlung	Konz. in E(γ)/ml	Aktivität der Antibiotika im Saft von Wurzeln | Stengeln | Blättern gemessen am Durchmesser der Hemmzonen bzw. der Konzentr. in E(γ)/ml Saft						H_2O-Verbrauch in ml/g Pflze. je Std.
		∅ mm	E/ml	∅ mm	E/ml	∅ mm	E/ml	
Vancomycin (1. Versuch)	200	1,4	4,1	0,0	0,0	0,0	0,0	0,28
„ + β-Indolylessigsäure	20	2,1	4,7	0,6	3,4	1,9	4,5	0,26
„ + Gibberellinsäure	1	2,0	4,6	0,2	2,9	+	+	0,36
„ + Naphthalenacetamid	2	2,8	5,3	0,4	3,1	2,1	4,7	0,26
„ + Naphthalenessigsäure	3	1,9	4,6	+	+	+	+	0,28
t_{min} 95%		0,7						
Vancomycin (2. Versuch)	200	12,6	34	8,6	14	12,5	33	1,14
„ + β-Indolylessigsäure	20	11,6	29	9,1	16	13,5	40	1,13
„ + Gibberellinsäure	1	12,5	34	8,2	13	13,4	43	1,03
„ + Naphthalenacetamid	2	10,4	21	8,2	13	14,3	54	1,02
„ + Naphthalenessigsäure	3	10,8	22	8,8	15	14,1	50	0,87
t_{min} 95%		1,1		1,1		1,0		
Novobiocin	200	0,9	0,22	0,8	0,21	+	+	0,55
„ + β-Indolylessigsäure	20	1,8	0,25	1,7	0,25	+	+	0,25
„ + Gibberellinsäure	1	1,6	0,24	0,2	0,23	+	+	0,69
„ + Naphthalenacetamid	2	1,7	0,25	1,0	0,22	+	+	0,46
„ + Naphthalenessigsäure	3	2,1	0,26	2,1	0,26	4,2	0,35	0,46
t_{min} 95%		0,6		0,5				
Streptomycin-sulfat	200	6,3	38	6,2	34	0,0	0,0	0,55
„ + β-Indolylessigsäure	20	7,0	49	6,3	37	0,0	0,0	0,59
„ + β-Indolylessigsäure	2	6,6	43	5,3	23	0,0	0,0	0,57
„ + Gibberellinsäure	10	5,4	23	4,9	20	0,0	0,0	0,58
„ + Gibberellinsäure	1	7,3	51	6,3	36	0,0	0,0	0,59
t_{min} 95%		0,9	14	1,3	11			

\+ Keine meßbaren Hemmzonen.

*) Durchschnitt von acht Pflanzen je Behandlung.

Vancomycin-HCl

In einem ersten Versuch wurde die Aktivität von Vancomycin durch β-Indolylessigsäure und Naphthalenacetamid ganz geringfügig in den Wurzeln und Blättern gesteigert. Wie aber aus der Tabelle ersehen werden kann, war die Wasseraufnahme — und folglich auch die Aufnahme von Vancomycin — infolge kühler Witterung nur mäßig. Der Versuch wurde wiederholt. In diesem zweiten Versuch erfolgte eine Aktivitätssteigerung durch β-Indolylessigsäure, Naphthalenacetamid und Naphthalenessigsäure in den Blättern. Demgegenüber stand eine Depression der Aktivität durch Naphthalenacetamid und Naphthalenessigsäure in den Wurzeln. Vielleicht war ein schnellerer Transport des Antibiotikums eingetreten, wodurch die Blätter mehr Vancomycin aufwiesen.

Novobiocin

In den Wurzeln und Stengeln wurde die Aktivität von Novobiocin durch die meisten der zugefügten Wuchsstoffe geringfügig erhöht. Eine etwas stärkere Steigerung der Aktivität erfuhren die Blätter durch Naphthalenessigsäure. Wie minimal die Steigerung der Antibiotikaaufnahme generell war, wird besonders deutlich, wenn nicht die Hemmzonen, sondern die Konzentrationen in γ/ml zum Vergleich herangezogen werden.

Streptomycin-sulfat

In Versuchen von GOODMAN und DOWLER (1957, 1958) wurde eine geringere Konzentration von Streptomycin in den Blättern gemessen, wenn Streptomycin einen Zusatz von β-Indolylessigsäure erhalten hatte. Es sollte nun geprüft werden ob derselbe Effekt vorliegt, wenn Streptomycin den Tomaten über die Wurzeln angeboten und nicht auf die Blätter gespritzt wird. Wie aus der Tabelle ersichtlich, war dieses nicht der Fall. β-Indolylessigsäure verhielt sich indifferent. Nur 10 γ Gibberellinsäure hatte eine Depression der Aktivität zur Folge. Die niedrige Konzentration von 1 γ/ml war aber ohne Einfluß. Eine Wirkung auf die Wasseraufnahme war auch nicht festzustellen.

Besprechung

Die Addition von Wuchsstoffen zu Vancomycin, Novobiocin und Streptomycin hatte nur einen geringen oder keinen Einfluß auf die Aktivität der Antibiotika in Tomatenpflanzen. Obwohl einige Unterschiede statistisch gesichert sind, kann von einer merklichen Erhöhung oder Depression der Aufnahme durch die Pflanze nicht gesprochen werden. Am auffallendsten waren die Unterschiede der Aktivität in den Blättern.

Eine Erhöhung der antibiotischen Aktivität durch einige Wuchsstoffe, wie sie von GOODMAN und DOWLER (1957, 1958) nach der Beschickung der Blätter erhalten wurde, konnte nach einer solchen über die Wurzeln nicht beobachtet werden. Andererseits fand keine Verringerung der Aktivität durch β-Indolyl-

essigsäure statt, wie sie GOODMAN und DOWLER nach der Addition zu Streptomycin und Applikation auf die Blätter feststellten.

β-Indolylessigsäure, Naphthalenacetamid und Naphthalenessigsäure wirkten außerdem nachteilig auf den Wuchs der Pflanzen. Die Stengel und Blätter krümmten sich. Diese Deformationen gingen nach einigen Tagen wieder etwas zurück, sodaß die Tomaten im Wuchs nicht so stark gehindert waren.

Nach den erhaltenen Ergebnissen zu urteilen, dürften Wuchsstoffe bei der Applikation der hier besprochenen Antibiotika über die Wurzeln wenig Aussichten auf Anwendung haben. Die gelegentlichen Aktivitätssteigerungen sind zu minimal. *In vivo*-Versuche müssen aber letztlich über die Wirkung der Wuchsstoffe Aufschluß geben, weil *in vitro*- und *in vivo*-Resultate bei der Beurteilung nicht konform zu gehen brauchen (KRÜGER 1961 c). Es kann durchaus sein, daß durch die Einführung der Wuchsstoffe eine Resistenz der Pflanzen aufgebaut wird (SERRANO 1955), die dann in Kombination mit den Antibiotika eine Krankheit weniger in Erscheinung treten läßt.

Zusammenfassung

Der Einfluß von Wuchsstoffen auf die Aufnahme der Antibiotika Vancomycin, Novobiocin und Streptomycin durch die Wurzeln von Tomaten wurde geprüft. Sowohl Steigerung als auch Depression der Antibiotikaaufnahme waren minimal und traten nicht durchgängig in allen Pflanzenteilen in Erscheinung.

Summary

The influence of growth regulating substances on the uptake of the antibiotics vancomycin, novobiocin and streptomycin by the roots of tomatoes was studied. As well increase as decrease of the uptake of the antibiotics were negligible and did not occur always in all parts of the plants.

Literaturverzeichnis

GÄUMANN, E., ST. NAEF-ROTH, P. REUSSER und A. AMMANN, 1952: Über den Einfluß einiger Welketoxine und Antibiotika auf die osmotischen Eigenschaften pflanzlicher Zellen. Phytopath. Z. **19**, 190—220.

GOODMAN, R. N., and D. D. HEMPHILL, 1954: The effect of indole-3-acetic acid on the plant disease-inhibiting properties of antibiotics. Science **11**, 347—348.

— —, and W. M. DOWLER, 1957: The influence of plant growth regulating substances and hydroxy-compounds on the absorption of streptomycin by plants. Verh. IV. Intern. Pflanzensch.-Kongreß, Hamburg 1957. Bd.2 (Braunschweig), 1559—1563.

— —, and — —, 1958: The absorption of streptomycin by bean plants as influenced by growth regulators and humectants. Plant Dis. Reptr. **42**, 122—126.

GRAY, A. R., 1955: Increasing the effectiveness of streptomycin against the common blight of beans with glycerin . Plant Dis. Reptr. **39**, 567—568.

GRAY, R. A., 1956: Increasing the absorption of streptomycin by leaves and flowers with glycerol. Phytopathology **46**, 105—111.

HEMPHILL, D. D., and R. N. GOODMAN, 1955: Effect of plant-growth regulating substances on control of *Erwinia amylovora* by Streptomycin and Terramycin. Science **122**, 122.

IYENGAR, M. R. S., and R. L. STARKEY, 1953: Synergism of auxin by antibiotics. Science **118**, 357—358.

KRÜGER, W., 1959: The control of tomato canker (*Corynebacterium michiganense* [Erw. Smith] Jensen) by means of antibiotics. South Afr. J. agric. Sci. **2**, 195—205.

— —, 1961 a: Further results on methods for the control of tomato canker (*Corynebacterium michiganense* [Erw. Smith] Jensen) by means of antibiotics. South Afr. J. agric. Sci. **4** (im Druck).

— —, 1961 b: Das Schicksal von Antibiotika in Tomatenpflanzen. I. Methoden zur Bestimmung von Antibiotika in Pflanzen. Phytopath. Z. **42**, 286—296.

— —, 1961 c: Das Schicksal von Antibiotika in Tomatenpflanzen. II. Aufnahme, Transport und Stabilität von Antibiotika in Pflanzen. Phytopath. Z. **42**, 362—374.

LESSER, M. A., 1954: Glycerine keeps pace with the antibiotics. Amer. Prof. Pharmacist **20**, 243—245 und 277—278. Ref.: Biol. Abstr. **29**, 26533 (1955).

MCNEW, G. L., 1956: Crop usage. Proc. 1st. intern. Conf. Use of antibiotics in agriculture, Washington 1956, 190—191.

PHILIPS, R. F., 1955: The systemic property of streptomycin. — Its role in combating infections of plants. Plant Dis. Reptr., Suppl. **234**, 128—130.

SERRANO, S. L., 1955: Posible induccion de resistencia del tomate al *Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary mediante auxinas. Acta agron. Palmira **5**, 117—134. Ref.: Rev. appl. Mycol. **36**, 140 (1957).

Government Forest Experiment Station, Meguro, Tokyo Japan

Studies on the Metabolism of *Helicobasidium mompa* Tanaka

1. Helicobasidin, a Pigment isolated from Culture of the Fungus

by

S. Takai

With 4 figures

Tanaka (1891) first assumed oxalate as the metabolic product of *Helicobasidium mompa* Tanaka, the causal fungus of violet root rot disease, and about twenty years later Miyake (1920) found some other organic acids more so than oxalate. In culture of the fungus Ito (1949) proved calcium oxalate and he ascribed pH depression of the medium due to its production. Recently Suzuki et al. (1957), however, have reported the production of itaconic acid, and they have assumed that the cause of pH depression of the medium at the first stage of culture might be mainly due to the production of this acid.

Besides these acids, Ito (1949) had already found the formation of mars orange amorphous bodies on the culture media, on the mycelia, and even on the glass wall being a little distant from hyphae of the fungus, and he recognized phenolic property on this substance. According to Suzuki et al. (1957) Nisikawa who isolated two kinds of pigment from mycelia of the fungus, named an orange yellow, waterinsoluble pigment as "helicobasidin" and another purple, watersoluble pigment as "mompain", but the writer has been unable to find any original article describing properties of these pigments.

The writer has repeated the isolation of the metabolic products of the fungus under suggestion by Ito and obtained respectively crude product m. p. 176—187 ° from aqueous $NaHCO_3$ extract and m. p. 178—187 ° from aqueous Na_2CO_3 extract from the steam distillate of culture (fig. 1). Both products were similar in colour, orange chrome, and showed no depression in the admixed melting point test. Further, the sublimed orange chrome needles, m. p. 189—190 ° on the glass wall of the cultural flask also showed no depression in the same test with the above compounds. Thus, these three products were conclusively determined to be identical with each other. The writer considered that the phenolic mars orange amorphous bodies on the culture noted by Ito (1949) might be the same as the present compound in this stage.

This compound showed positive result for the phenolic group test with $FeCl_3$, ARNOW's and MILLON's reagents, and also gave positive result for the quinone group test with magnesium acetate. The empirical formula for the purified compound was revealed as $C_{15}H_{20}O_4$. Its ultraviolet absorption curve exhibited a maximum at λ 296 mμ ($\log \varepsilon$, 4.20) in ethanol and showed shift by + 27 mμ for λ_{max} in N/50 KOH alkaline solution (fig. 2). On these observations, this compound should possess phenolic group in its molecule. This was supported by its infrared absorption spectra (fig. 3) which showed the probable presence of phenolic OH (λ_{max}^{KBr} μ: 3.00, 7.71, $\lambda_{max}^{CCl_4}$ μ: 3.04, 7.36). These spectra also suggest the presence of conjugated C=O, characteristic for the quinone group (λ_{max}^{KBr} μ: 6.13, $\lambda_{max}^{CCl_4}$ μ: 6.08).

This compound seemed to be very similar to "helicobasidin" mentioned above, especially in colour, solubility in water and the original source. In

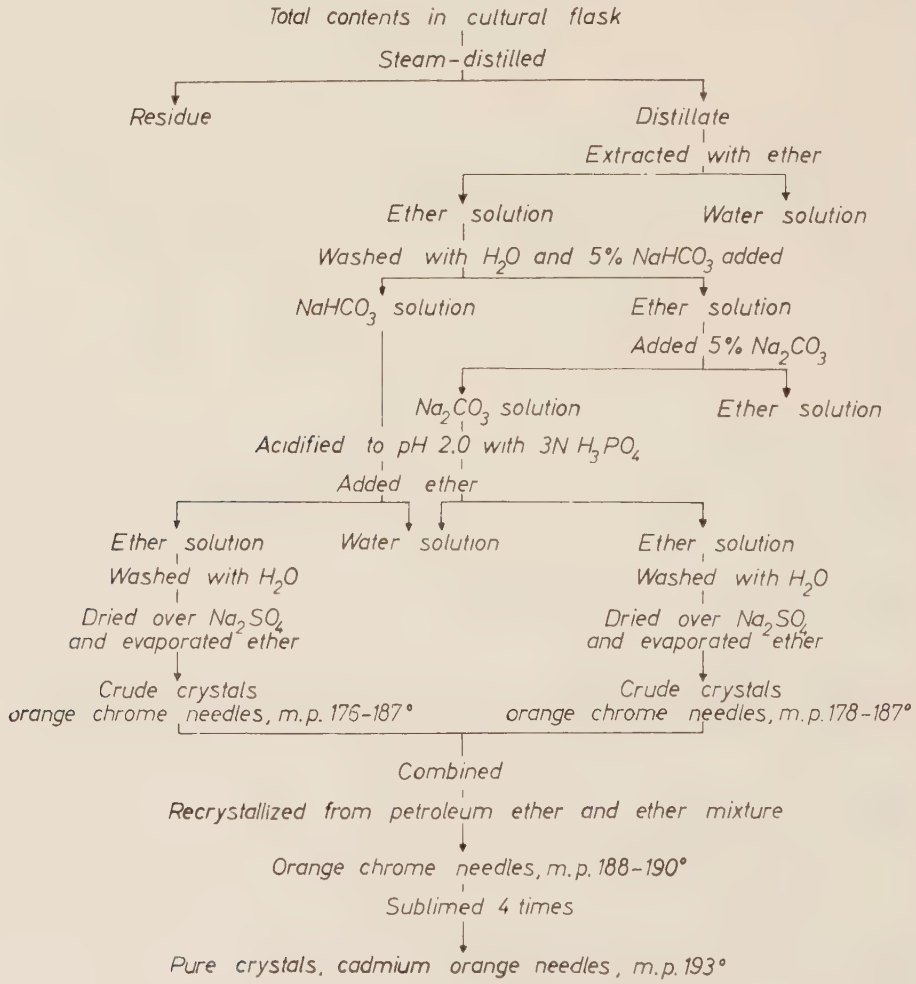


Fig. 1. The procedure of isolation of helicobasidin from *Helicobasidium mompa*

order to direct comparison of this compound with "helicobasidin", the writer asked Dr. SUZUKI to send the authentic sample, and the writer expresses gratitude to him for such kind co-operation. Determination of the admixed melting point giving no depression and observation of complete correspondence with λ_{max} in ultraviolet spectra showed that the writer's compound might be identical with "helicobasidin". Then, to avoid confusion, the writer decided to name this compound tentatively as helicobasidin following NISHIKAWA's naming.

Owing to the lack of detailed data on helicobasidin, the writer thought that it would be appropriate to report some of its properties in this paper.

The communication on these studies has been published 1959.

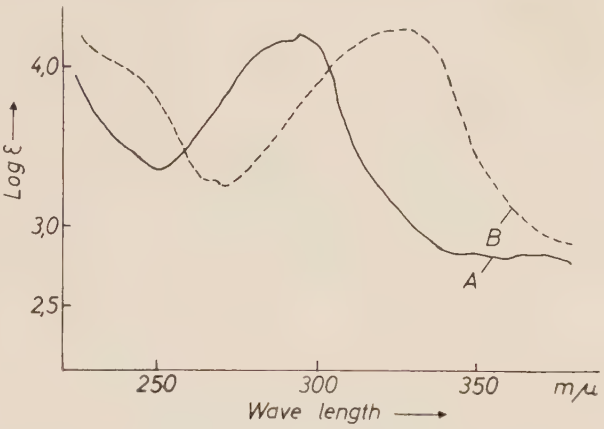


Fig. 2. Ultraviolet absorption spectra of helicobasidin. A: in ethanol. B: in N/50 KOH alkaline ethanol.

Toxicity of helicobasidin to higher plants was tested (Table). Helicobasidin showed remarkable toxicity to tomato cutting and broad bean radicle. Tomato cutting suffered wilting and vein necrosis during 20 hours and complete collapse in 48 hours with helicobasidin up to 1/8,000 in concentration (5.2×10^{-4} M); and vein necrosis and chlorosis at lower concentration, 1/24,000, during 48 hours. On the other hand, broad bean radicle gave the most sensitive reaction in all tested plants. It produced clear necrosis with helicobasidin, up to 1/64,000 in concentration at 25 °C, during 24 hours. The writer will report more detailed results of this experiment in the following paper.

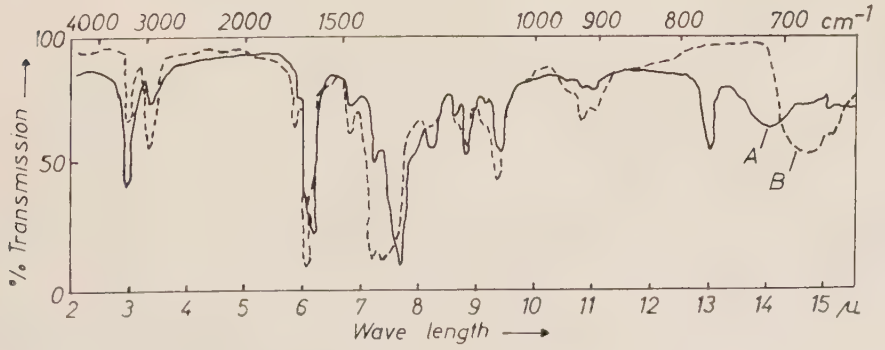


Fig. 3. Infrared absorption spectra of helicobasidin. A: KBr. B: CCl_4.

Toxicity of helicobasidin to higher plants

Symptom	Plant	Concentration of helicobasidin									
		1/2,000	1/4,000	1/6,000	1/8,000	1/12,000	1/16,000	1/24,000	1/32,000	1/64,000	0
Wilting	Camphor tree*	+++	+++	+++	+++						−
	Mulberry tree*	++	++		++						−
	False indigo*		+++	++	++		++		−		−
	Soy bean*		+++	++	++		++		−		−
	Tomato*	+++	+++	+++	+++	++	+	+	+		−
Necrosis	Broad bean**		+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	++	−

+++: severe wilting or necrosis, ++: light wilting or necrosis, +: partial wilting or necrosis, −: no reaction *: cutting of stem, **: radicle of seedling

Acknowledgements

This study has been carried out under the direction of Dr. K. ITO the chief of the writer's laboratory, to whom the writer wishes to express appreciation for his continued interest and helpful suggestions. Great indebtedness is also acknowledged to Dr. M. HASEGAWA, Gov. For. Exp. Sta., for his valuable suggestions. To Dr. M. MIYAZAKI and the members of his laboratory, Gov. For. Exp. Sta., who have given most useful advice during the course of this study, the writer wishes to express his gratitude. Further thanks are also due to Dr. N. SUZUKI, Nat. Inst. Agric Sci., for his value co-operation in the sending of "helicobasidin", and to the members of Takamine Laboratory, Sankyo Co., Ltd., Tokyo for their valuable suggestions and determination of the microanalysis and the infrared spectra of helicobasidin.

Experimental

(The m. ps. given are uncorrected.)

Organism

Helicobasidin mompa Tanaka, strain M-1, which was isolated by ITO (1949) from the root of sweet potato, was used.

Preparation of the inoculum. For inoculation the culture was grown on potato sucrose agar plate for 7 days. The small square cut from the young colonies of the fungus was placed on the medium.

Medium. Potato decoction containing 2% sucrose was used. Vitamines consisting of 10 mg of thiamine, 3 mg of riboflavin, 3 mg of pyridoxine, 5 mg of calcium panthothenate and 10 γ of biotin were added to 1,000 ml of the basal

medium. Two hundred ml of the medium in 500 ml volume Erlenmeyer's flask, adjusting pH to 6.0 with NaOH was autoclaved for 15 minutes at 10 lb pressure.

The culture was harvested after 90 days incubation at 25 °C. The pH value of the culture medium shifted from 6.0 to 3.8 during incubation.

Cultural characteristics

On the production of the mars orange amorphous substance, Ito (1949) observed that it was produced not only on culture media, but also on the mycelium, and even on the glass wall being a little distant from the creeping hyphae of the fungus. In the present experiment the writer obtained the same result on the metabolic production.

Isolation of helicobasidin

The contents in the flasks were combined, distilled with steam and the resultant destillate was exhaustively extracted with ether. The chrome yellow ether extract was shaken with freshly prepared aqueous 5% $NaHCO_3$ and 5% Na_2CO_3 solutions, respectively. Colours of each alkaline extract were pale purple and reddish purple. Both extracts were acidified with 3N H_3PO_4 to pH 2.0 and extracted with ether. The upper layers were washed with water, dried over Na_2SO_4 and evaporated, to afford orange chrome crude products from both alkaline extracts. The product from $NaHCO_3$ extract, m. p. 176—187 °, and another from Na_2CO_3 extract, m. p. 178—187 °, gave no depression in the admixed melting point test (176—187 °). Thus, both compounds were determined to be identical and combined.

Further, the orange chrome compound of the glass wall of the cultural flasks was gathered with the spatula and sublimed. The resultant sublimate, orange chrome needles, m. p. 189—190 °, showed

Fig. 4. Pure crystals of helicobasidin. (X 250).

no depression in the admixed melting point test with the above products, (188—190 °). Therefore, this was considered to be the same one as the alkaline products. Thus, these three compounds were conclusively proved to be identical with each other.

The yields of crude compound were 140 mg from 10 flask cultures of *Helicobasidium mompa* containing 200 ml of sucrose-potato decoction.

Purification

The crude compound from alkaline extracts was twice recrystallized from mixed solvent of petroleum ether and ether, and the resultant compound were orange chrome needles, m. p. 188—190 ° (fig. 4).

Further purification by successive sublimations 4 times gave fine cadmium orange needles, m. p. 193 °.

Comparison of this compound with "helicobasidin"

The direct comparison of "helicobasidin", m. p. 186—188 °, kindly sent by SUZUKI with this compound, m. p. 193 °, isolated by the writer was carried out through the admixed melting point test and the ultraviolet absorption spectra, and no significant depression in the admixed melting point test (187—190 °) and no difference in ultraviolet spectra respectively were observed. $\lambda_{max}^{Ethanol}$ 296 mμ and $\lambda_{min}^{Ethanol}$ 250 mμ well corresponded.

Based on the above tests, the sample of the writer's might be identical with that which was recognized to be first isolated by NISHIKAWA.

General properties

Helicobasidin: $C_{15}H_{20}O_4$ (Found: C, 68.03, 68.29 : H, 7.37, 7.82 : N, S, Cl, nil : M, 253 (Rast) : requires C, 68.16 : H, 7.63 : 0.24.21 : M, 264.3), cadmium orange needles, m. p. 193 °, sparingly soluble in ether and pyridine, readily soluble in chloroform, dioxane and methyl acetate, soluble in acetone, benzene, n-hexane, ligroin, petroleum ether, and petroleum benzene mixture, insoluble in water. Solutions are intensively yellow to orange with exception of pink pyridine solution. It dissolves in cold aqueous $NaHCO_3$ and Na_2CO_3 solutions to give respective pale purple and reddish purple solutions from which it is regenerated on acidification. Its ethanolic solution gives a reddish brown to purple brown with ethanolic $FeCl_3$, a pale yellow with ARNOW's reagent, a yellow with MILLON's reagent, and a pinkish purple with magnesium acetate. But its colour reaction with diazotized reagent is indistinct owing to its sensitive colouration with Na_2CO_3. The ultraviolet absorption spectra of helicobasidin were as follows: $\lambda_{max}^{Ethanol}$ mμ (logε): 296 (4.20), $\lambda_{max}^{N/50\ KOH\text{-}Ethanol}$ mμ (logε): 323 (4.25), showing the presence of phenolic OH (fig. 2).

The infrared absorption spectra of sublimed helicobasidin were kindly taken at Takamine Laboratory, Sankyo Co., Ltd.: λ_{max}^{KBr} μ: 3.00, 7.71, $\lambda_{max}^{CCl_4}$ μ: 3.04, 7.36 (phenolic OH), λ_{max}^{KBr} μ: 6.13, $\lambda_{max}^{CCl_4}$ μ: 6.08 (conjugated C=O) (fig. 3).

Toxicity of helicobasidin to higher plants

Cutting of camphor tree (*Cinnamomum Camphora* Sieb.), mulberry tree (*Morus Bombycis* Koidz), false indigo (*Amorpha fruticosa* L.), soy bean (*Glycine max* Merrill), and tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.), radicle of broad bean (*Vicia faba* L.) were used to test toxicity of helicobasidin. Because of insolubility in water, helicobasidin was tested in the form of sodium salt. Adding aqeous NaOH solution to helicobasidin and 2 % ethanol mixture, a neutral treating solution was made up. Cuttings of tested plants were put in treating solution. This experiment was carried out under room temperature in August to September. Broad bean radicle grown to a length of 5—10 mm was tied round with absorbent cotton to which a drop of treating solution was given. Then the broad bean seedling was incubated on the filter paper which was laid in the petri-dish and wetted with 2 % ethanol, at 25 °C. Remarkable toxicity was observed (Table).

In the tested plants, tomato cutting and broad bean radicle were regularly and severely affected with helicobasidin. Tomato cutting suffered wilting and vein necrosis during 20 hours and complete collapse in 48 hours when it was treated with 1/8,000 solution (5.2×10^{-4} M) of helicobasidin; and further, vein necrosis and chlorosis with 1/24,000 solution during 48 hours. On the other hand, broad bean radicle directly produced clear necrosis at the area treated with helicobasidin up to 1/64,000 in concentration during 24 hours.

Summary

1. A mould pigment, helicobasidin has been isolated from the contents in the cultural flasks of *Helicobasidium mompa* Tanaka grown on potato decoction with sucrose, and characterized.

2. In comparison of the writer's sample with that of Nishikawa, these two have been determined to be identical.

3. Formula for helicobasidin has been determined as $C_{15}H_{20}O_4$. It consists of cadmium orange needles from petroleum ether and ether mixture, and melts at 193 °C.

4. The ultraviolet and infrared absorption spectra and other tests of helicobasidin have suggested the phenolic character in it.

5. Toxicity of helicobasidin to higher plants was tested. In the tomato cutting heavy wilting or collapse occurred at concentration of more than 1/8,000 (5.2×10^{-4} M) of sodium salt of helicobasidin, and vein necrosis and chlorosis at

concentration of more than 1/24,000 respectively. Broad bean radicle produced clear necrosis at concentration of more than 1/64,000 solutions at 25 °C during 24 hours.

Zusammenfassung

1. Aus einem Kulturgefäß mit *Helicobasidum mompa* Tanaka, gewachsen auf Kartoffeldekokt mit Rohrzucker, wurde ein Pilzfarbstoff isoliert.

2. Vergleichsversuche zeigten, daß diese Substanz mit dem von Nishikawa gefundenen „Helicobasidin" identisch ist.

3. Die Elementaranalyse von Helicobasidin ergab $C_{15}H_{20}O_4$. Aus einem Gemisch von Petroläther mit Äther kristallisierte der Stoff in Form von orangefarbenen Nadeln. Der Schmelzpunkt liegt bei 193 °C.

4. Ultraviolett-, Infrarot-Spektren und andere Versuche deuten auf eine phenolische Substanz hin.

5. Die Toxitätsprüfung gegen höhere Pflanzen mit dem Na-Salz in wässeriger Lösung ergab folgende Befunde: Eine Konzentration von 1 : 8000 ($5{,}2 \times 10^{-4}$m) rief auf Tomatensprossen schwere Welkesymptome oder Kollaps hervor; eine Konzentration von 1 : 24000 erzeugte noch eine deutliche Adernnekrose und Chlorose der Pflanzen. Keimwurzeln der Saubohne (*Vicia faba* L.) nekrotisierten innerhalb 24 Stunden bei 25 °C in einer Konzentration von 1 : 64000.

Literature cited

Ito, K., 1959: Studies on "Murasakimompa" disease caused by *Helicobasidium Mompa* Tanaka. Bull. Gov. For. Exp. Sta. **43**, 1—126.

Miyake, I., 1920: On the causal fungus of "Murasaki-mompa" disease (in Japanese). Sangyo Shikenjo Hokoku **4**, 273—392.

Takai, S., 1959: Trans. 69 th Meeting, Jap. For. Soc. **1959**, 348—349.

Tanaka, N., 1891: A new species of hymenomycetous fungus injurious to the mulberry tree. J. Coll. Sci. Imp. Univ. Jap. **4**, 193—349.

Suzuki, N., K. Kasai, Y. Yamazaki, T. Araki, S. Toyoda, and T. Takanashi, 1957: Studies on the violet root rot of sweet potatoes. Bull. Nat. Inst. Agric. Sci. (Jap.), C, **8**, 1—173.

Aus dem Institut für Pflanzenkrankheiten der Universität Bonn
Direktor: Prof. Dr. H. Braun

Beobachtungen über das Kartoffel-Y-Virus in der Kartoffelpflanze unter besonderer Berücksichtigung der Knolle[1])

II. Virushemmstoffe in der Kartoffelpflanze

Von

F. Nienhaus

Mit 8 Abbildungen

Inhalt: 1. Die Hemmwirkung von Preßsäften verschiedener Organe. — 2. Die Hemmwirkung von Blatt- und Knollenextrakten mehrerer Sorten zu verschiedenen Jahreszeiten und verschiedener Pflanzen ein und derselben Sorte. — 3. Die Hemmstoffaktivität in der Kartoffelpflanze in Abhängigkeit von Umwelteinflüssen. — 4. Die Hemmwirkung auf Y-Virus und andere Viren in verschiedenen Wirtspflanzen. — 5. Das Verhalten des Hemmstoffes innerhalb und außerhalb der Pflanze. — 6. Versuche zur Klärung der chemischen Natur des Hemmstoffes. — Diskussion. — Zusammenfassung. — Summary. — Literaturverzeichnis.

In Untersuchungen über den Einfluß von Temperatur und Licht auf die Y-Virus-Anfälligkeit verschiedener Wirtspflanzen war neben einer temperatur- und lichtabhängigen Hemmstoffbildung im Kartoffellaub der Sorte Erdgold ein weiteres hemmendes Prinzip aufgefallen (Nienhaus 1957, S. 207—208, Tab. 12), das in der vorliegenden Arbeit näher untersucht wurde.

Aus Geweben von Kartoffelpflanzen stellte ich Preßsaft durch Zermörsern und Auspressen her, mischte ihn 1 : 1 mit Y_N- oder Y_R-Virus aus Tabak und testete auf Blättern von *Physalis floridana* oder der *Solanum demissum*-Hybride A_6 nach der Halbblattmethode, in der die auf einer Blatthälfte inokulierten Preßsäfte der Proben mit den entsprechenden Kontrollen auf der gegenüberliegenden Blatthälfte verglichen werden (Abb. 1).

Die Anzahl der auf A_6-Blättern entstehenden Läsionen ist im Vergleich zu bestimmten Blattstadien von *Physalis floridana* sehr starken Schwankungen unterworfen; sie kamen deshalb für exakte Aussagen nur begrenzt in Frage.

[1]) Mit Unterstützung durch die Deutsche Forschungsgemeinschaft.

Die Hemmwirkung auf Y-Virus wurde auch in systemisch erkrankten Tabakpflanzen und in der Kartoffel selbst geprüft, ferner auf X-Virus in *Gomphrena globosa* und auf Tabakmosaikvirus in *Nicotiana glutinosa* nach der Halbblattmethode.

1. Die Hemmwirkung von Preßsäften verschiedener Organe

Aus einzelnen Teilen zwei und sechs Wochen alter Pflanzen der Sorten Westerwälder Niere und Hansa und acht Wochen alter Isola-Pflanzen stellte ich Preßsäfte her und testete nach der oben beschriebenen Methode auf *Physalis floridana*. Preßsäfte aus verschiedenen Regionen der Knolle wurden aus Knollen sowohl sofort nach der Ernte (sechs Monate nach Pflanztermin im Gewächshaus), als auch nach der Winterlagerung bei 4 °C bis März gewonnen. Letztere waren teils ungekeimt, teils nach dreiwöchiger Lagerung bei 20 °C gekeimt. Bei Capella-Knollen trennte ich im Test verkorkte Schale und Rindenparenchym.

Abb. 1. Halbblattmethode auf *Physalis floridana*. Linke Blatthälfte: Hemmung der Läsionenausbildung durch Kartoffelpreßsaftmischung, rechte Blatthälfte: Kontrolle (Virus-Wasser-Mischung)

In Tabelle 1 sind die Läsionenzahlen aus fünf bis 15 Wiederholungen in Prozent der in der Kontrolle gefundenen zusammengestellt. In der Kontrolle war das Virus mit Wasser gemischt. Die Hemmwirkung ist danach im Kraut vor allem in Blattextrakten, in der Knolle im Preßsaft der Rindenzone und in den Keimen konzentriert. Durch Preßsäfte aus Gefäßbündelzone und Speicherparenchym — besonders bei Keimung — konnte dagegen häufig eine Förderung der Läsionenausbildung in *Physalis* im Vergleich zur Virus-Wassermischung beobachtet werden. Die Hemmwirkung des Rindenpreßsaftes ließ sich auch sechs Wochen nach dem Auspflanzen der dann verglasten Knollen nachweisen: Oberarnbacher Frühe = 8 Läsionen gegenüber 100 der Kontrolle (Mittelwert von drei Knollen, N = 15). Die Hemmung des Extraktes aus verkorkten Zellschichten beschränkte sich keineswegs auf die Schale der Knollen, sondern trat auch in der verkorkten Schnittfläche des Parenchyms von halbierten Knollen auf: 26 Läsionen gegenüber 100 der Kontrolle, wenn 1 g Korkgewebe in 2 cm^3 Y_N-Virus-Suspensionen zermörsert wurde (statistische Sicherung = P = 0,1 %).

Tabelle 1

Hemmwirkung in Preßsäften
aus verschiedenen Organen der Kartoffelpflanze.
Läsionen in Prozent der Virus-Wasser-Mischung. S = Schale, P = Rindenparenchym, D = Dunkel-, L = Lichtkeime

Sorte Stadium	Kraut			Stadium	Knolle				Kontrolle
	Blatt jung	Blatt ausgewachsen	Stengel		Rinde	Gefäßbündel	Parenchym (Mark)	Keim D L	
Westw. Niere									
2 Wochen	9***	34***	103°	nach Ernte	11***				100
6 Wochen	0,1***	1***	90°	nach Winterl.	17***	153°		0***	100
Hansa									
2 Wochen	26***	28***	85°	nach Ernte	2***				100
6 Wochen	5***	2***	79°	nach Winterl.	1***	119°		0,3***	100
Isola				nach Winterl.					
8 Wochen	6***	22***	112°	ungekeimt	2***	101°	124°	0,2***	100
				gekeimt	3***	130°	160°	0,3***0	100
				nach Winterl.					
Erdgold				ungekeimt	7***	92°	97°		100
				gekeimt		243*			100
				nach Ernte	1***				100
Capella				nach Winterl.	S.3*** P.8***	278*		0,4***	100

Zeichenerklärung: P% > 5 nicht gesichert (°), P% < 5 schwach gesichert (*), P% < 1 gesichert (**), P% < 0,1 gut gesichert (***). Siehe auch NIENHAUS, Phytopath. Z. 43, Seite 3, oben.

Blüten von der *Solanum demissum*-Hybride A_6 ergaben nach Zermörsern in Y_N-Viruspreßsaft aus Tabak ebenfalls eine starke Läsionenhemmung in *Physalis:* Blütenblätter 0,6 %, Fruchtblätter 0,6 %, Staubblätter 0,1 % der Virus-Wasser-Mischung. Die Hemmwirkung in Lichtkeimen ließ sich sowohl in ihren Rindenzonen als auch im Zentralzylinder nachweisen, z. B. Isola: Rinde 0 %, Zentralzylinder 0 %; Benedetta: Rinde 0 %, Zentralzylinder 0 % der Virus-Wasser-Mischung.

2. Die Hemmwirkung von Blatt- und Knollenextrakten mehrerer Sorten zu verschiedenen Jahreszeiten und verschiedener Pflanzen ein und derselben Sorte

Nachdem die Orte der Hemmstoffaktivität bekannt waren, war es von Interesse, ob mit einer sortenspezifischen Hemmwirkung zu rechnen ist. Zur Herstellung von Preßsäften dienten in den Monaten April bis Oktober entnommene Blätter von im Gewächshaus kultivierten, nicht infektiösen Pflanzen verschiedener Sorten bzw. zerriebenes Rindengewebe bis zur Gefäßbündelzone

Tabelle 2

Hemmwirkung in Blatt- und Knollenrindenpreßsäften mehrerer Sorten in verschiedenen Jahreszeiten.

Sorte	Blattpreßsaft							Knollenrindenpreßsaft						
	April 7 W.[1]	Mai 7 W.	Juni 9 W.	Juli 3 W.	Sept. 10 W.	Okt. 7 W.	$\bar{x}$	nach Ernte			nach Winterlager			$\bar{x}$
	8-10 N	8 N	13-15 N	6 N	15 N	10-13 N		5 N	10 N	5 N	6 N	6-20 N	27 N	
Maritta	26[2]	—	12	2	5	—	11	2	1	1	1	—	5	2
Capella	13	25	17	2	4	21	14	9	—	—	8	9	8	9
Westw. Niere	29	18	20	4	7	11	15	2	—	—	5	17	—	8
Isola	—	21	—	—	10	—	16	4	19	5	1	2	4	6
Erdgold	29	22	34	2	6	—	19	6	—	—	12	7	—	8
Ackersegen	48	23	41	9	7	10	23	5	—	1	4	19	5	7
Fina	22	37	58	1	15	—	27	16	—	2	36	—	—	18
Lori	49	12	78	1	4	—	29	56	—	10	3	10	4	16
Ob. Frühe	46	42	66	6	18	22	33	2	43	11	9	—	—	16
Fabricia	33	60	91	2	14	21	37	—	—	—	—	—	—	—
Ancilla	11	40	79	—	—	—	43	—	—	—		—		—
$\bar{x}$	31	30	50	3	9	17	24	11			9			10

[1]) Alter der Pflanzen in Wochen (N = Anzahl der Einzelwerte).
[2]) Läsionen in Prozent der Kontrolle auf *Physalis floridana*.

von frisch geernteten oder im Lager bei 4 °C aufbewahrten Knollen. Die einzelnen oder kombinierten Preßsäfte von drei bis zehn Pflanzen je Sorte wurden 1 : 1 mit Y_N-Virussaft aus Tabak vermischt und in mindestens fünf Wiederholungen nach der Halbblattmethode auf *Physalis floridana* abgerieben. Tabelle 2 gibt die Läsionen in Prozent der Virus-Wasser-Mischung wieder. Vergleicht man die sortenweise zusammengefaßten Werte der Blattpreßsäfte mit denen der Knollenrindenpreßsäfte, so zeigt sich insofern eine Parallelität, als Maritta die stärkste, Fina, Lori und Oberarnbacher Frühe die geringste Hemmwirkung erkennen lassen. Die Einzelergebnisse der Blattextrakte zu verschiedenen Zeiten lassen sich wegen wechselnder Anfälligkeit von *Physalis*-Pflanzen, unterschiedlichen Viruskonzentrationen und anderen Faktoren nicht ohne weiteres vergleichen. Die Tendenz ist aber offensichtlich, daß die zwischen April und Juni aus sieben bis zehn Wochen alten Kartoffelpflanzen (Blühbeginn) gewonnenen Extrakte weniger hemmen als die im Herbst kultivierten gleichaltrigen Pflanzen (30 bis 50 % gegenüber 9 bis 17 %). Starke Hemmwirkung trat im Sommer auch in jungen Pflanzen auf (drei Wochen nach Pflanztermin: 3 % Läsionen).

Rindenpreßsäfte hemmten im Durchschnitt aller Sorten stärker als Blattpreßsäfte. Das wurde eindeutig erkennbar, als ich sowohl Maritta-Blattpreßsaft aus sieben Wochen alten Kartoffelpflanzen als auch Maritta-Rindenpreßsaft bei 4 °C gelagerter Knollen nach einer Reinigungszentrifugierung bei 9000 g 1 : 5, 1 : 10 und 1 : 50 mit Wasser verdünnte, die verdünnten Preßsäfte 1 : 1 mit gereinigtem Y_N-Virussaft aus Tabak mischte und die Hemmwirkung nach der

Halbblattmethode auf *Physalis* prüfte. Nach Abbildung 2 war der hemmende Effekt im Blattpreßsaft bei schon 10facher Verdünnung vollständig verschwunden (weiße Säulen), während er im 50fach verdünnten Knollenrindenpreßsaft noch zu 72 % erhalten blieb (schwarze Säulen).

Die Hemmwirkung von Kartoffelpreßsäften ist nicht nur sorten- und jahreszeitlich abhängig, sondern wechselt auch von Pflanze zu Pflanze innerhalb derselben Sorte. In Tabelle 3 sind die Werte von sieben bis zwölf Einzelknollenextrakten aus dem Winterlager und von zehn Blattextrakten gleichaltriger Pflanzen je Sorte unter denselben Bedingungen zusammengestellt.

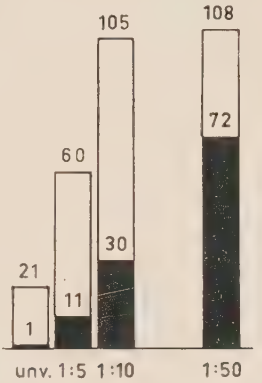


Abb. 2. Hemmwirkung in unverdünnten und 1 : 5, 1 : 10 und 1 : 50 verdünnten Blatt- und Knollenrindenpreßsäften der Sorte Maritta auf Y_N-Virus. Weiße Säulen: Blattpreßsaft (sieben Wochen alte Pflanzen im Juli), schwarze Säulen: Knollenrindenpreßsaft (4 °C-Lagerung). Zahlen über den Säulen: Läsionen in Prozent der Virus-Wasser-Mischung

Tabelle 3

Hemmwirkung in Knollen- und Blattpreßsäften verschiedener Kartoffelpflanzen ein und derselben Sorte

Knollenrindenpreßsaft	Nr.1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	$\bar{x}$
Ackersegen	27[1])	13	29	15	18	15	13						19
Isola	1	6	17	3	8	5	3	3	2	3	1	1	4
Lori	10	1	4	5	2	1	2	3	7	6	1	1	4
Maritta	2	7	10	7	4	1	7	2	2				5
Olympia	3	4	5	4	12	3	5	10	3	5			5
Blattpreßsaft													
Erdgold	101	61	86	63	88	37	100	93	67	67			76
Fina	60	88	105	100	83	50	39	48	55	50			68

[1]) Läsionen in Prozent der Kontrolle.

Setzt man die geringste Hemmwirkung im Preßsaft einer Knolle = 100 %, so ist die stärkste bei anderen Knollen derselben Sorte 6, 10, 25 und 45 %, in Blattpreßsäften 100 gegenüber 37 %.

3. Die Hemmstoffaktivität in der Kartoffelpflanze in Abhängigkeit von Umwelteinflüssen

Auf den Einfluß von Temperatur und Licht auf die Hemmwirkung in Blattpreßsäften habe ich bereits früher (Nienhaus 1957) hingewiesen. Die oben beschriebenen jahreszeitlichen Unterschiede deuten in die gleiche Richtung. Zur

weiteren Klärung dienten Untersuchungen, die sich freilich im wesentlichen auf die Kartoffelknolle beschränkten. Knollen verschiedener Sorten, die im Winter bei 4 °C gelagert hatten, verwahrte ich weitere zweieinhalb bis vier Wochen bei 4, 20, 26 und 32 °C, 60 bis 80 % relativer Feuchtigkeit und Dunkelheit in Klimakammern und prüfte anschließend ihre Rindenpreßsäfte auf Hemmwirkung nach der Halbblattmethode. Die Ergebnisse in Tabelle 4 lassen keinen Einfluß der Temperatur auf die Hemmstoffaktivität in der Knollenrinde erkennen.

Tabelle 4

Hemmwirkung in der Knollenrinde
nach zweieinhalb- bis vierwöchiger unterschiedlicher Lagerungstemperatur

Sorte	Lagerung (2½ Wochen) 4 °C	20 °C	32 °C	Sorte	Lagerung (4 Wochen) 4 °C	20 °C	26 °C
Isola	19[1])	13	12	Capella	4	11	11
Maritta	1	3	4	Fina	5	3	8
Ob. Frühe	43	46	40	Isola	3	8	5
				Lori	4	5	3
				Maritta	4	6	4
$\bar{x}$	21	21	19	$\bar{x}$	4	7	6

[1]) Läsionen in Prozent der Kontrolle, drei Knollen/Sorte und Temperatur in vier Wiederholungen, N = 12.

Anders verhielten sich Preßsäfte, die aus dem Parenchym der Knollenmitte und der Gefäßbündelzone gewonnen waren (Tab. 5). Die Unterschiede zu den Werten bei 20 °C lassen sich nur teilweise statistisch sichern. Da bei 20 °C in diesem Bereich der Knolle keine oder keine wesentliche Hemmwirkung beob-

Tabelle 5

Hemmwirkung im Parenchym und Gefäßbündelring
der Knolle nach vierwöchiger Lagerung bei unterschiedlicher Temperatur
(60 bis 80 % relativer Luftfeuchtigkeit)

	Sorte	Lagerung (4 Wochen) 4 °C	20 °C	26 °C	30 °C
I.	Maritta	47° [1])	58	25**	
	Oberarnbacher Frühe	81°	92	58*	
II.	Delos	71**[2])	134		—
	Hansa	60**	138		65**
	Isola	87°	118		100°
	Westw. Niere	55°	73		62°
	$\bar{x}$	67	102		76

[1]) Läsionen in Prozent der Kontrolle, N = 12.
[2]) Läsionen in Prozent der Kontrolle, N = 9.
Zeichenerklärung siehe Tabelle 1.

achtet werden konnte, ist der bei tieferen und höheren Temperaturen auftretende Inhibitor offensichtlich nicht mit dem Knollenrindenhemmstoff identisch. Vermutlich handelt es sich hier um das früher beschriebene hemmende Prinzip (Nienhaus 1957).

Über die Hemmwirkung im Rindenpreßsaft von Knollen, die bei 20 °C vier Wochen lang hell bzw. dunkel gelagert wurden, unterrichtet Tabelle 6. Danach verlieren durch Belichtung ergrünte Knollen einen Teil ihrer Hemmwirkung in der Rindenzone, wobei aber wahrscheinlich mit sortenspezifischen Unterschieden zu rechnen ist.

Tabelle 6

Hemmwirkung im Rindenpreßsaft belichteter und dunkel gelagerter Knollen

Sorte	Belichtete Knollen	Dunkel gelagerte Knollen
Ackersegen	19*** [1]	1
Datura	8**	3
Hansa	11**	4
Lori	16°	10
$\bar{x}$	14	5

[1]) Läsionen in Prozent der Virus-Wasser-Mischung, vier Knollen je Sorte kombiniert, N = 5.

Zeichenerklärung siehe Tabelle 1.

In einem weiteren Versuch konnte die Hemmwirkung von Blattextrakten aus Kartoffelpflanzen unter Lang- und Kurztagbedingungen verglichen werden. Blattpreßsäfte von Pflanzen verschiedener Sorten, die von April bis Juli im Freiland (I, je zweimal zehn Pflanzen, zwölf Wiederholungen) sowie von Februar bis Mai im Gewächshaus (II, je drei Pflanzen, sechs Wiederholungen) unter Lang- und Kurztag (16 bzw. 10 Stunden Licht) kultiviert waren, wurden nach der üblichen Methode getestet. In Tabelle 7 sind die Ergebnisse

Tabelle 7

Hemmwirkung in Blattpreßsäften aus Kartoffelpflanzen unter Lang- und Kurztag

	Sorte	Langtag	Kurztag
I.	Ackersegen	82[1])	66°
	Comtessa	89	79°
II.	Lori	107	21**
	Maritta	100	34**
	Oberarnb. Frühe	112	72°
	Westw. Niere	85	60°

[1]) Läsionen in Prozent der Virus-Wasser-Mischung. I N = 12, II = 6.

Zeichenerklärung siehe Tabelle 1.

aus den zwei Versuchen zusammengestellt. Sie zeigen eine statistisch gesicherte verstärkte Hemmwirkung bei Gewächshauspflanzen unter Kurztagbedingungen. Vermutlich wird hier das früher beschriebene hemmende Prinzip aktiviert (vgl. NIENHAUS 1957).

Auch Wundreaktionen beeinflussen die Hemmwirkung. Vorgekeimte Kartoffelknollen wurden halbiert und sieben Tage lang bei 20 °C und 80 % Luftfeuchtigkeit gelagert. Anschließend wurde nach Entfernen der Korkschicht auf der Schnittfläche das darunterliegende Gewebe (2 mm tief, Speicherparenchym, Gefäßbündelzone und Rinde) zermörsert und der Preßsaft zum Test auf *Physalis* 1 : 1 mit Y_N-Virussaft vermischt. Die Hemmwirkung dieses Preßsaftes wurde mit derjenigen von Saft aus unmittelbar vor dem Test halbierten Kartoffelknollen verglichen. Nach Tabelle 8 wurde sie durch Wundreaktionen um weitere 68 % erhöht.

Tabelle 8

Verstärkung des hemmenden Prinzips
in Kartoffelknollen durch Wundreaktionen nach sieben Tagen

Sorte	Halbierung der Kartoffelknollen	
	7 Tage vor Test	unmittelbar vor Test
Ackersegen	7[1])	33
Datura	12	26
Isola	18	56
$\bar{x}$	12**	38

[1]) Läsionen in Prozent der Virus-Wasser-Mischung, N = 9.
Zeichenerklärung siehe Tabelle 1.

Wenn halbierte Knollen von Oberarnbacher Frühe und Capella teils mit Y_R-Virus, teils mit Wasser inokuliert und drei Wochen später — nach Lagerung bei 20 °C und Abzentrifugieren der Viruspartikeln aus dem Preßsaft (2 Stunden bei 140 000 g) — der letztere mit Y_N-Virussaft 1 : 1 gemischt und auf *Physalis* nach der Halbblattmethode getestet wurde, so fand ich folgende Läsionenzahlen: Oberarnbacher Frühe bzw. Capella nach Wasserinokulation = 206 bzw. 178, nach Y_R-Virusinokulation = 234 bzw. 190 Läsionen je Halbblatt (N = 16). Demnach beeinflußte eine Virusinfektion die Hemmwirkung der normalen Wundreaktion nicht.

4. Die Hemmwirkung auf Y-Virus und andere Viren in verschiedenen Wirtspflanzen

Die Hemmwirkung durch Kartoffelpreßsaft wurde außer in *Physalis floridana* auch in Tabak, in Blättern von *Solanum demissum*-Hybride A_6, in Kartoffelknollen, *Gomphrena globosa* und in *Nicotiana glutinosa* geprüft, teilweise unter Einschluß von X-Virus und TMV.

Die Hemmung ließ sich in Tabak durch Blattpreßsäfte verschiedener Kartoffelsorten, mit verdünntem Virussaft aus Tabak (Y_N-Virus = 1 : 500, Y_R-Virus = 1 : 1000) 2 : 1 vermischt, nachweisen. Die Ergebnisse von je 10 bis 30 Tabakpflanzen (Samsun, Fünf- bis Sechs-Blatt-Stadium) sind aus Tabelle 9 ersichtlich.

Tabelle 9

Hemmung der Y_N- und Y_R-Virusinfektion in Tabak durch Kartoffelblattpreßsaft verschiedener Sorten

Sorte	Y_N-Virus		Y_R-Virus	
Ackersegen	23/30[1])	77[2])	11/30	37
Capella	6/10	60	2/10	20
Fabricia	7/10	70	10/20	50
Isola	5/20	25	2/20	10
Lori	15/20	75	4/20	20
Oberarnbacher Frühe	13/30	43	4/30	13
Westerw. Niere	8/10	80	3/10	30
Kontrolle	30/30	100	27/30	90

[1]) Anzahl infizierter/Anzahl inokulierter Tabakpflanzen.
[2]) Prozent Infektionen.

Tabelle 10

Hemmung der Läsionenausbildung von Y_R-Virus in Blättern von *Solanum demissum*-Hybride A_6 durch Blatt- und Knollenpreßsäfte (Halbblattmethode im Vergleich zur Virus-Wasser-Mischung)

Sorte	Blattpreßsaft	Knollenpreßsaft
Ackersegen	36[1])	24[2])
Ancilla	24	72
Capella	27	26
Datura	—	8
Fabricia	28	2
Fina	57	8
Isola	17	31
Lori	36	21
Maritta	16	33
Oberarnb. Frühe	34	64
Westerw. Niere	33	—

[1]) Läsionen in Prozent der Virus-Wasser-Mischung, N = 10—30.
[2]) N = 4.

Danach wurde die Infektion des Tabaks durch Blattpreßsäfte verschiedener Sorten unterschiedlich stark gehemmt. Für einen exakten Sortenvergleich reicht die Anzahl inokulierter Tabakpflanzen allerdings nicht aus. Da ein sol-

cher Vergleich bereits auf *Physalis floridana* erfolgte, konnte hier darauf verzichtet werden. Nur qualitativ, nicht quantitativ sind auch die Versuche über die Hemmwirkung auf Y_R-Virus in Blättern der *Solanum demissum*-Hybride A_6 zu bewerten, da die Läsionenzahlen in A_6-Blättern starken Schwankungen unterworfen sind. Tabelle 10 zeigt die Hemmung von Blatt- und Knollenrindenpreßsaft aus neun Wochen alten Kartoffelpflanzen bzw. Knollen nach Winterlagerung bei 4 °C.

Eine Hemmung der Läsionenausbildung in A_6-Blättern trat auch durch Blatt- und Knollenrindenpreßsaft aus A_6-Pflanzen selbst auf (Y_R-Virus – 60

Tabelle 11

Hemmwirkung des Rindenpreßsaftes
aus Isola- und Fina-Knollen auf die Y_N-Virusinfektion in Isola- und Fina-Knollen

Inokulierte Knollen (Sorte)	Nr.	Isola-Hemmstoff				Nr.	Fina-Hemmstoff			
		Hemmstoff		Wasser			Hemmstoff		Wasser	
		Physalis	Tabak	*Physalis*	Tabak		*Physalis*	Tabak	*Physalis*	Tabak
Isola	1	5[1])	+[2])	95	+	11	12	+	57	+
	2	4	+	31	+	12	0	—	89	+
	3	0	—	4	+	13	0	—	6	+
	4	12	+	85	+	14	10	—	69	+
	5	0	—	36	+	15	2	+	10	+
	6	1	—	13	+	16	2	+	84	+
	7	3	+	46	+	17	6	+	45	+
	8	10	—	21	+	18	2	+	9	+
	9	0	—	106	+	19	30	+	92	+
	10	32	+	32	+	20	2	—	24	+
	Σ	67 (14%)	5/10	469 (100%)	10/10		66 (14%)	6/10	485 (100%)	10/10
Fina	1	0	—	23	+	11	0	—	0	—
	2	0	—	12	+	12	3	+	95	+
	3	0	—	23	+	13	14	—	5	+
	4	19	+	180	+	14	0	—	29	+
	5	3	+	75	+	15	9	—	49	+
	6	5	—	11	+	16	0	—	54	+
	7	0	—	8	+	17	27	—	49	+
	8	0	—	6	+	18	8	+	63	+
	9	0	—	14	+	19	1	—	19	+
	10	0	—	17	+	20	36	+	25	+
	Σ	27 (7%)	2/10	369 (100%)	10/10		98 (25%)	3/10	388 (100%)	9/10

[1]) Läsionen von drei Wiederholungen, Test des Preßsaftes infizierter Knollen drei Wochen nach Inokulation auf *Physalis*.

[2]) + = infizierter, — = nicht infizierter Tabak.

und 62 % Läsionen der Virus-Wasser-Mischung), allerdings schwächer als in *Physalis*-Blättern (Y_N-Virus: A_6-Blattpreßsaft in *Physalis* = 12 %, in A_6 = 57 % Läsionen der Virus-Wasser-Mischung).

Weiterhin wurden Rindenpreßsäfte aus Isola- und Fina-Knollen 5 : 1 mit Y_N-Virussaft aus Tabak vermischt und je zehn Knollenhälften beider Sorten mit dem Virus-Fina- bzw. mit dem Virus-Isola-Gemisch und die entsprechenden zweiten Hälften als Kontrolle mit einer Virus-Wasser-Mischung inokuliert. Nach dreiwöchiger Lagerung bei 20 °C konnten die in Tabelle 11 zusammengestellten Ergebnisse im *Physalis*- und im Tabaktest durch Preßsäfte aus der Parenchym- und Gefäßbündelzone der mit den Virus-Hemmstoff-Gemischen inokulierten Knollenhälften gewonnen werden. Danach wirken Knollenpreßsäfte auch in dem Organ, aus dem sie isoliert wurden. Isola- und Fina-Preßsäfte scheinen die Virusinfektion oder -vermehrung in der fremden Sorte etwas stärker zu hemmen als in der eigenen, aus der sie stammten (statistisch nicht gesichert): Isola-Preßsaft in Fina = 7 %, in Isola = 14 %, Fina-Preßsaft in Isola = 14 %, in Fina = 25 % Läsionen. In einem zweiten Versuch war die Virusaktivität drei Wochen nach Inokulation einer Virus-Isola-Hemmstoffmischung in Knollen von Oberarnbacher Frühe 3 %, in Isola-Knollen 5 %, verglichen mit der Aktivität nach Virus-Wasser-Inokulation.

Tabelle 12

Hemmung des X-Virus durch Preßsaft von Knollenrinde verschiedener Sorten in *Gomphrena globosa*

Ancilla	87[1])	Isola	27
Capella	81	Maritta	14
Hansa	53	Oberarnb. Frühe	47

[1]) Läsionen in Prozent der Virus-Wasser-Mischung, N = 5.

Auch die Aktivität des Kartoffel-X-Virus in *Gomphrena globosa* wird durch Kartoffelpreßsäfte beeinträchtigt. Hooker und Kim (1959) beobachteten ein hemmendes Prinzip im Blattextrakt verschiedener Kartoffelsorten gegenüber X-Virus. Nach Tabelle 12 hemmten auch Knollenrindenpreßsäfte dieses Virus beträchtlich, wenn sie 1 : 1 mit X-Virussaft aus Tabak gemischt und nach der Halbblattmethode in Blättern von *Gomphrena globosa* in jeweils fünf Wiederholungen inokuliert wurden (Kontrolle = Virus-Wasser-Mischung).

Ebenso hemmte Knollenrindenpreßsaft aus Maritta und Datura die Läsionenausbildung in *Nicotiana glutinosa* nach Tabakmosaikvirusinfektion: 16 % Läsionen der TMV-Wasser-Mischung (Sicherung bei P = 0,1 %).

5. Das Verhalten des Hemmstoffes innerhalb und außerhalb der Pflanze

Weiterhin war zu klären, ob der Hemmstoff in vivo in der Wirtspflanze Ansiedlung und Vermehrung der Viren blockiert oder in vitro mit den Viruspartikeln reagiert. Während durch niedrige Temperatur induzierte Hemmwirkung von Saftextrakt aus Tabakpflanzen (Nienhaus 1957, S. 210) in älteren Pflanzen von *Physalis floridana* stark, in jungen nur schwach ist, ist die von Rindenpreßsaft aus Kartoffelknollen vom Alter der *Physalis*-Pflanzen unabhängig. Das zeigt Tabelle 13, in der die Ergebnisse von jeweils sechs Wiederholungen an Pflanzen unterschiedlichen Alters zusammengestellt sind.

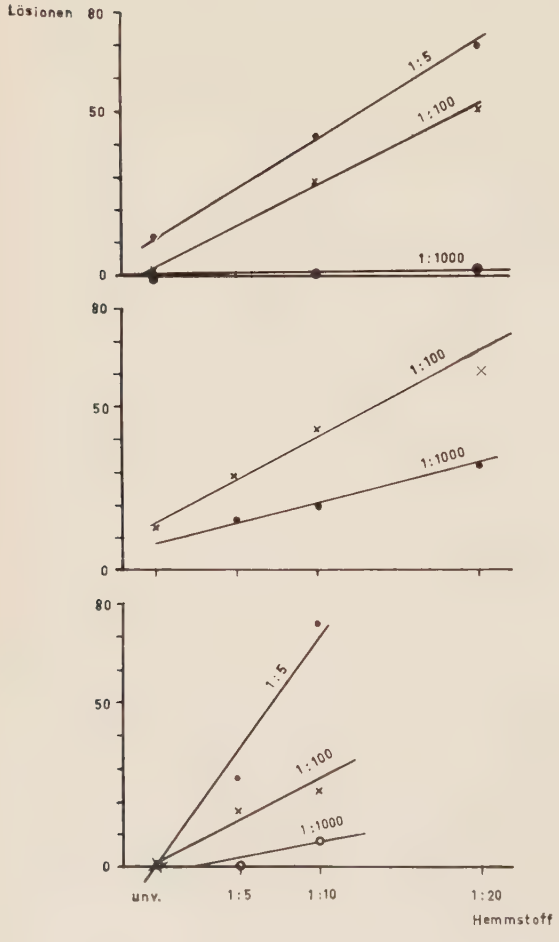
Tabelle 13

Hemmung der Läsionen
durch Rindenpreßsaft aus Isola-Knollen in Blättern von *Physalis floridana* unterschiedlichen Alters

Blatt	Altersstadium von *Physalis floridana*					
	I.[1])		II.		III.	
	Hemmstoff	Wasser	Hemmstoff	Wasser	Hemmstoff	Wasser
6.	4[2]) (1 %)	364 (100 %)				
7.	2 (0,3 %)	707 (100 %)				
8.	2 (0,2 %)	831 (100 %)				
11.			14 (2 %)	821 (100 %)	13 (3 %)	404 (100 %)

[1]) I = 8 Wochen (Zehn-Blatt-Stadium), II = 12 Wochen (Blühbeginn, normales Testalter), III = 16 Wochen (Früchte, Blätter verhältnismäßig hart).

[2]) Läsionen in sechs Halbblättern.



Die Hemmung der Läsionenausbildung wirkte sich besonders stark bei Mischung des Virus mit dem hemmstoffhaltigen Saft vor der Inokulation aus. Viel geringer war der Effekt bei getrennter Inokulation von Virus und Hemmstoff: Inokulation einer Mischung von Knollenrindenpreßsaft aus Maritta mit Y_N-Virussaft aus Tabak ergab 0,3 % Läsionen der Virus-Wasser-Mischung, Inokulation von Knollenrindenpreßsaft allein unmittelbar vor der Virusbeimpfung = 60 % Läsionen, 30 Stunden bzw. 48 Stunden nach der Beimpfung = 77 % bzw. 82 % Läsionen.

Abb. 3. Verminderung der Läsionenzahl auf *Physalis* bei Vermischung unterschiedlicher Konzentrationen von Y_N-Virus und Hemmstoff aus der Knollenrinde (I und III = Isola, II = Maritta). Läsionen in Prozent der Virus-Wasser-Mischung. Virussaft aus Tabak 1 : 5, 1 : 100, 1 : 1000 mit Wasser verdünnt, Knollenrindenpreßsaft unverdünnt, 1 : 5, 1 : 10, 1 : 20 verdünnt

Zur Klärung der Wirkungsweise des Hemmstoffes in vitro wurden bei 14 800 g gereinigte Preßsäfte aus der Knollenrinde von Isola und Maritta unverdünnt, 1 : 5, 1 : 10, 1 : 20 mit Wasser verdünnt mit Y_N-Virussaft aus Tabak (1 : 5, 1 : 100 und 1 : 1000) 1 : 1 gemischt und auf *Physalis* getestet. Als Kontrolle dienten entsprechende Virus-Wasser-Mischungen. Die Ergebnisse sind in Abbildung 3 dargestellt.

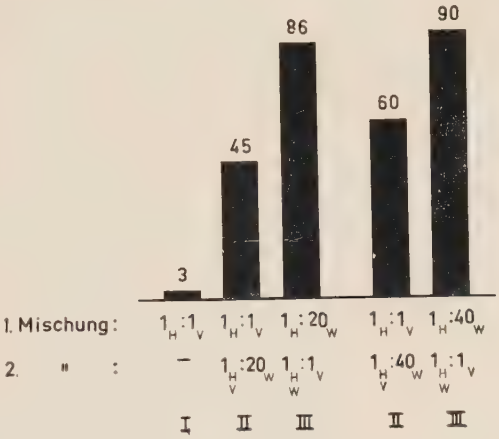


Abb. 4. Verdünnung des Knollenrindenpreßsaftes (1 : 20 bzw. 1 : 40) nach und vor seiner Mischung mit Y_N-Virussaft. Säulen = Prozent Läsionen der jeweiligen Virus-Wasser-Mischung. I. Hemmstoff (H) : Virus (V) = 1 : 1, II. Hemmstoff (H) : Virus (V) = 1 : 1, dann Mischung (H + V) 1 : 20 bzw. 1 : 40 mit Wasser (W) verdünnt, III. Verdünnung des Hemmstoffes 1 : 20 bzw. 1 : 40 mit Wasser (W), anschließend Mischung des verdünnten Preßsaftes (H + W) 1 : 1 mit Virus (V)

Die Läsionenzahl nimmt mit steigender Kartoffelpreßsaftverdünnung und Viruskonzentration zu.

In einer zweiten Versuchsreihe wurde zunächst der Maritta-Knollenrindenpreßsaft 1 : 1 mit Y_N-Virussaft (I) gemischt und anschließend die Mischung 1 : 20 oder 1 : 40 mit Wasser verdünnt (II) bzw. zuerst der Preßsaft entsprechend verdünnt und dann mit dem Virussaft gemischt (III). Den Kontrollen war der Preßsaft nicht zugesetzt. Das Ergebnis veranschaulicht Abbildung 4.

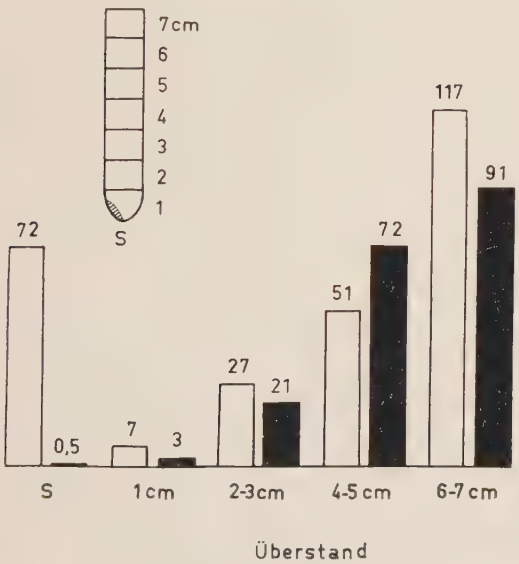


Abb. 5. Hemmwirkung einzelner Fraktionen und der Sedimente nach 15 Stunden (weiße Säulen) und 21 Stunden (schwarze Säulen) Ultrazentrifugierung bei 105 000 bis 140 000 g. Säulen = Prozent Läsionen der Virus-Wasser-Mischung

Die Hemmwirkung des Knollenrindenpreßsaftes wird durch Verdünnung 1 : 20 und 1 : 40 weniger vermindert, wenn diese nach Mischung, als wenn sie vor Mischung erfolgt (1 : 20 = 45 % gegenüber 86 %, 1 : 40 = 60 % gegenüber 90 % Läsionen der entsprechenden Virus-Wasser-Mischung).

Durch Ultrazentrifugierung (Beckman, Modell Spinco L) bei 105 000 bis 140 000 g eines bei 14 800 g gereinigten Knollenrindenpreßsaftes konnte nach 15 Stunden bei + 1 °C die Hemmwirkung im wesentlichen im Überstand unmittelbar über dem Sediment, nach 21 Stunden im Sediment selbst nachgewiesen werden. Abbildung 5 gibt die Hemmwirkung einzelner Fraktionen des Überstandes und der Sedimente nach 15 und 21 Stunden Zentrifugierung wieder, nachdem sie 1 : 1 mit Y_N-Virussaft (gereinigt) gemischt worden waren. Die Sedimente wurden vor der Mischung im Originalvolumen Wasser suspendiert.

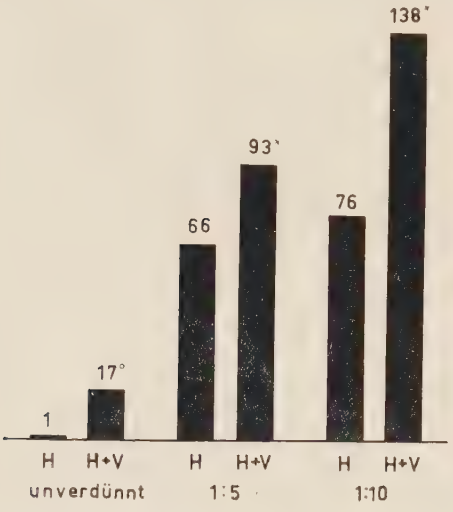


Abb. 6. Ultrazentrifugierung (105 000 bis 140 000 g) von Hemmstofflösungen aus der Knollenrinde (H) verschiedener Konzentration (unverdünnt, 1 : 5, 1 : 10 verdünnt) und von Hemmstoff-Virus-Mischungen (H + V). Hemmwirkung in den Überständen. Säulen = Prozent Läsionen der Virus-Wasser-Mischung

Da das Y-Virus bereits in ein- bis zweistündigem Zentrifugieren bei 50 000 g sedimentiert, bot sich hier eine Gelegenheit, die Sedimentationsgeschwindigkeit eines Virus-Hemmstoff-Gemisches zu ermitteln. Zu diesem Versuch wurden Knollenrindenpreßsaft von Maritta und Y_N-Virussaft aus Tabak bei 14 800 g gereinigt und anschließend Virussaft (1 : 10 verdünnt) und Hemmstofflösung (unverdünnt, 1 : 5, 1 : 10 verdünnt) — teils getrennt, teils gemischt — bei 105 000 bis 140 000 g 2 Stunden zentrifugiert. Nach Zentrifugieren der reinen Viruslösung konnte im Überstand keine, im Sediment 98 bis 100 % Virusaktivität des nicht zentrifugierten Saftes nachgewiesen werden. Die Ergebnisse sind in Abbildung 6 niedergelegt.

Durch zweistündiges Zentrifugieren bei 140 000 g wurde der Hemmstoff nicht abgesetzt. Im Überstand des Virus-Hemmstoff-Gemisches war die Hemmwirkung — verglichen mit dem Überstand des zentrifugierten Hemmstoffes — vermindert: Hemmstoff unverdünnt = 17 % gegenüber 1 %, 1 : 5 = 93 % gegenüber 66 %, 1 : 10 = 138 % gegenüber 76 %. Offenbar hatten sich Hemmstoffteilchen mit Viruspartikeln vereinigt abgesetzt.

Die Hemmwirkung blieb die gleiche, wenn das Virus-Hemmstoff-Gemisch unmittelbar nach Vermischung und 8 Stunden später inokuliert wurde: 2 % bzw. 3 % Läsionen der Virus-Wasser-Mischung.

Bei 72stündiger Aufbewahrung von Knollen- und Blattpreßsaft bei 4° und 21 °C vor Mischung mit Y-Virussaft wurde nur in den ersten 24 Stunden, unabhängig von der Temperatur, die Hemmwirkung herabgesetzt: bei Beginn der Aufbewahrung 9 % Läsionen durch Knollenhemmstoff, 5 % durch Blatthemmstoff, 24 Stunden später 18 bzw. 22 % (4 °C), 20 bzw. 15 % (21 °C) Läsionen der Virus-Wasser-Mischung.

Zur Beobachtung des Einflusses der Wasserstoffionenkonzentration wurden Knollen- und Blattpreßsäfte mit Pufferlösungen nach SÖRENSEN (Na_2HPO_4 und Zitronensäure) auf pH 3, 4, 5, 7 und mit Na_2CO_3 auf pH 10 eingestellt (Verdünnung 1 : 1) und in einem ersten Versuch nach 60 Minuten Einwirkung mit Zitronensäure bzw. Soda alle Preßsäfte auf pH 6,7 bis 7,1 umgestellt und mit Y_N-Virussaft 1 : 1 gemischt. In einem zweiten Versuch blieben die Preßsäfte mit einem pH von 1,2 bis 10,5 (Pufferlösungen und zusätzliche Verwendung von 1 n HCl oder NaOH) 24 Stunden stehen, ehe Umstellung auf pH 6,8 bis 7,1 und Mischung mit Y-Virussaft erfolgte. Das Ergebnis beider Versuche ist in Tabelle 14 niedergelegt.

Tabelle 14

1- bzw. 24stündige Einwirkung unterschiedlicher Wasserstoffionenkonzentration auf die Hemmstoffaktivität von Knollenrinden- und Blattpreßsaft

Preßsaft	pH	1,2	2,0	3,0	4,0	5,0	6,0	6,7	7,0	8,0	9,0	9,5	10,0	10,5
1. Knolle				19 [1]	11	11		12	16				12	
Blatt				10	9	7		10	11				9	
2. Knolle		9	5	2	1	2	2	1	1	1	5	7	5	11

[1]) Läsionen in Prozent der Virus-Wasser-Mischung (pH 7), N = 4—6.

Ein geringfügiger Abfall der Hemmwirkung trat nach 24stündiger Einwirkung nur im Bereich von pH 1 bis 2 und 9 bis 10,5 auf.

Schließlich wurde die Inaktivierungstemperatur des Hemmstoffes in vitro bestimmt, indem jeweils 1 cm^3 ungereinigter Blatt- und Knollenrindenpreßsaft von Capella in Reagenzgläsern im Wasserbad 10 Minuten lang erhitzt, rasch abgekühlt und nach Mischung 1 : 1 mit Y_N-Virussaft auf *Physalis* abgerieben wurde. Das Ergebnis von zwei Wiederholungen zeigt Tabelle 15.

Tabelle 15

Hemmstoffinaktivierung in vitro durch Erhitzen

Preßsaft aus	unbehandelt	10 Minuten behandelt			
		50 °C	60 °C	65 °C	80 °C
I. Blatt	2[1])	6°	5°	37***	—
Knolle	6	15°	26***	36***	—
II. Blatt	14	—	—	38**	90***
Knolle	13	—	—	67***	93***

[1]) Läsionen in Prozent der Virus-Wasser-Mischung.
Zeichenerklärung siehe Tabelle 1.

Die Inaktivierung des Hemmstoffes in Blatt- und Knollenrindenpreßsaft begann etwa bei 60 bis 65 °C.

6. Versuche zur Klärung der chemischen Natur des Hemmstoffes

Zur Isolierung des Hemmstoffes eignete sich folgendes Verfahren (vgl. Abb. 7).

2 bis 3 kg Schalen (Rindengewebe bis zur Gefäßbündelzone) von gut gereinigten Kartoffelknollen wurden zwei bis drei Tage bei — 15 °C eingefroren, durch den Fleischwolf gedreht, in 5 bis 6 Liter kaltem Aceton von — 60 °C aufgefangen und eine Stunde extrahiert. Die tiefgekühlte Suspension wurde bei 200 Atm. Druck mit einer hydraulischen Presse so abgepreßt, daß die Temperatur des Rückstandes dauernd unter 0 °C blieb. Nach Verwerfen des Acetonextraktes stand der Rückstand 24 bis 48 Stunden bei —15 °C. Anschließend wurde 48 Stunden bei + 1 bis 4 °C mit 0,15 mol. Phosphatpuffer (pH 7, Zusatz von 2 % NaCl) extrahiert (800 bis 1600 g in 5 bis 8 Liter). Nach Auspressen bei 200 Atm. Druck wurde der Preßsaft klar zentrifugiert und mit Ammoniumsulfatsalz bis 80 % Sättigung versetzt. Nach 1 bis 2 Stunden bei 1 °C konnten durch 20 bis 40 Minuten währendes Zentrifugieren die ausgesalzenen Stoffe (vor allem Eiweiße) mit der gesamten Hemmwirkung als Sediment gewonnen werden. Sie ließen sich in Phosphatpuffer lösen. Nach Dialyse unter fließendem Wasser über Nacht und Abzentrifugieren der dabei unlöslich gewordenen Substanzen wurde die auf 1,0 bis 1,5 Liter reduzierte Lösung durch erneute Ammoniumsulfatzugabe (70 %) weiter eingeengt und das Sediment in Pufferlösung wieder aufgenommen. Anschließend wurde unter starkem Rühren mit Ammoniumsulfat bei 30 %, 60 % und 90 % Sättigung fraktioniert ausgesalzen. Die Sedimente wurden getrennt in 20 bis 100 cm³ Phosphatpuffer gelöst und über Nacht dialy-

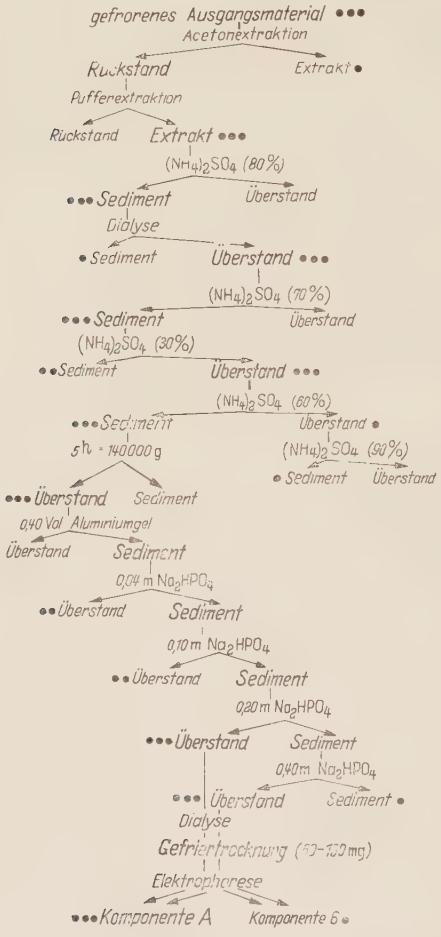


Abb. 7. Isolierung des Hemmstoffes aus der Kartoffelknollenrinde. Ausgangsmaterial = 2 bis 3 kg Schalen. • = schwache, •• = mittlere, ••• = starke Hemmwirkung im *Physalis*-Test

siert. Die Hemmwirkung lag überwiegend in der 60 %-Fraktion (z. B. 30 % = 33 %, 60 % = 3 %, 90 % = 92 % Läsionen der Virus-Wasser-Mischung). Diese 60%-Fraktion wurde 5 Stunden lang bei 140 000 g gereinigt (der Hemmstoff sedimentiert erst nach 15 und mehr Stunden) und die klare Lösung mit 0,4 Volumen Aluminiumgel (hergestellt nach WILLSTÄTTER 1928) kräftig geschüttelt. Die damit gefällten Substanzen (besonders Eiweiße) wurden abzentrifugiert und in Natriumhydrogenphosphatlösung unterschiedlicher Konzentration (0,04, 0,10, 0,20 und 0,40 mol.) fraktioniert eluiert. In den ersten beiden Eluaten (0,04 und 0,10 mol.) war der Hauptanteil brauner Verunreinigungen, während die anderen Lösungen schwach gefärbt erschienen. Hier befand sich in der Regel der Hauptanteil des Hemmstoffes, von dem ein Teil durch Verwerfen der anderen Proben verloren ging. Nach Dialyse über Nacht und Gefriertrocknung wurden die Proben chemisch untersucht. Mit Hilfe der Papierelektrophorese (Elphor H nach GRASSMANN und HANNING; Bender und Hobein, München) war eine weitere Reinigung des Hemmstoffes möglich. Bei 100 Volt Spannung konnten zwei Eiweißkomponenten (Amidoschwarzfärbung) in 15 Stunden in Phosphatpuffer (SÖRENSEN, 0,05 mol., pH 7) getrennt werden. Die Komponente mit etwas geringerer Wanderungsgeschwindigkeit enthielt die Hemmwirkung, welche erkennbar wurde, wenn Streifen in einzelne Sektoren geschnitten und in Y_N-Virussuspension eluiert wurden.

Das UV-Absorptionsspektrum (Abb. 8) wies ein Maximum bei 280 mμ, ein Minimum bei 260 mμ auf, wie es für Eiweiße charakteristisch ist. Nach Hydrolyse wurden die Aminosäuren des Hemmstoffeiweißes papierchromatographisch getrennt. Durch Vergleich der Rf-Werte in verschiedenen Lösungsmitteln mit Reinsubtanzen sowie Farbunterschiede nach Ninhydrin-Collidin- und Isatinanfärbung (LINSKENS 1959) konnten folgende 14 Aminosäuren annähernd bestimmt werden:

Cystein	Glutaminsäure	Methionin
Lysin	Alanin	Valin
Histidin	Aminobuttersäure	Phenylalanin
Asparaginsäure	Prolin	Leucin
Glycin	Tyrosin	

Nach der Anthronmethode (HOPPE-SEYLER/THIERFELDER 1955) wurden keine Kohlenhydrate, mit Ammoniummolybdat usw. kein Phosphor und papierchromatographisch keine organische Säure festgestellt. Reste von Phenolverbindungen haben offenbar keine Beziehung zum Hemmstoff, da sie in stärkerem Maße nur in Fraktionen mit geringer oder keiner Hemmwirkung vorhanden waren. Chlorogensäure, die vor allem in der Rinde von Kartoffelknollen papierchromatographisch nachzuweisen ist (Methode nach JOHNSON und SCHAAL 1952), hemmte das Y-Virus in *Physalis* nicht. Die Peroxydase- und Polyphenoloxydaseaktivität lag ganz oder doch überwiegend in Proben mit geringerer Hemmwirkung (Methode für Peroxydase: GUTHRIE 1931, für Poly-

phenoloxydase: 0,4%ige Lösung von p-Cresol; die Verfärbungsintensität wurde im Photometer Beckman DU bei 600 mμ bzw. 450 mμ gemessen). Meerrettich-Peroxydase (1 %) 1 : 1 mit Y_N-Virus vermischt hemmte die Läsionenausbildung in geringerem Ausmaß (35 % gegenüber 100 % der Kontrolle).

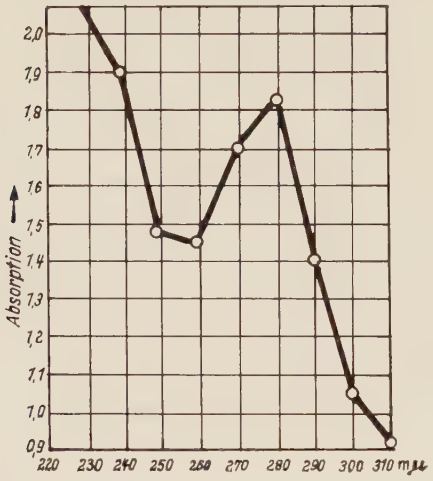


Abb. 8. Absorptionskurve des gereinigten Hemmstoffpräparates im ultravioletten Licht. Absorption = — log T gemessen mit Beckman-Photometer DU

Nach diesen Untersuchungen handelt es sich bei dem in der Kartoffelknolle nachgewiesenen Virushemmstoff um ein Protein, das bei etwa 65 bis 80 °C inaktiviert wird und nach groben Berechnungen aus der Sedimentationsgeschwindigkeit bei Ultrazentrifugierung ein Molekulargewicht von maximal 150 000 bis 70 000 hat, vorausgesetzt, daß die Hemmstoffpartikeln mehr oder weniger kugelförmig sind. Viskosität (Wasser 20 °C) = η = 0,01 Poise, Dichte (Wasser 20 °C) = ϱ = 1,0 g/ml, Dichte der Teilchen = σ = 1,2 g/ml, Leistungsindex Pi = 25×10^8 (nach Beckman Instruments, Bedienungsanleitung für Ultrazentrifuge).

DISKUSSION

In den Versuchen zur Hemmstoffisolierung wurde stets von Knollenmaterial ausgegangen, so daß nicht ohne weiteres angenommen werden kann, der Hemmstoff in Kraut und Knolle sei derselbe. Da jedoch sortenmäßig eine große Übereinstimmung in der Hemmwirkung von Blatt- und Knollenextrakten bestand und sich die Eigenschaften in vitro glichen, besteht diese Vermutung zu Recht. Dagegen spricht vieles dafür, daß das durch Temperatur induzierte hemmende Prinzip im Speicherparenchym der Knolle auf andere Stoffe zurückgeht, weil nach früheren Untersuchungen (NIENHAUS 1957) dieses nicht in vitro, sondern ausschließlich in der Wirtspflanze wirkt. Hierüber werden weitere Versuche vorbereitet. Der von mir isolierte Hemmstoff des Knollenrindengewebes ist ein Protein, an dem bisher keine besondere Wirkgruppe entdeckt werden konnte. KASSANIS und KLECZKOWSKI (1948) isolierten aus *Phytolacca esculenta* einen Hemmstoff ebenfalls mit Proteinnatur. In diesem Fall handelte es sich jedoch um ein Glycoproteid. Ein starker Hemmstoff mit Eiweißcharakter wurde auch aus *Dianthus caryophyllus* isoliert (RAGETLI 1957). RAGETLI vermutet im Protein den Hemmstoffträger, nicht den Hemmstoff selbst, da in elektrophoretischer Trennung Nachbarzonen mit Eiweißcharakter keine Hemmwirkung aufwiesen. Eine besondere Wirkgruppe konnte aber nicht festgestellt werden. Nach der Sedimentationsgeschwindigkeit bei 254 000 g berechnete RAGETLI ein Molekulargewicht von mindestens 10 000. Diese Beobachtungen am Nelken-

hemmstoff gleichen weitgehend den von mir gemachten. Auch das isolierte Kartoffelprotein ließ sich elektrophoretisch noch in zwei Komponenten trennen, von denen die eine die wesentliche Hemmwirkung enthielt. Ihr Molekulargewicht beträgt höchstens 150 000 bis 70 000.

Hemmstoffe können die Viruspartikeln in vitro inaktivieren oder erst in der Wirtspflanze die Ansiedlung und Vermehrung des Virus beeinträchtigen, indem sie einerseits die Rezeptoren der Wirtszelle blockieren oder stoffwechselphysiologische Veränderungen in den Zellen bewirken, sie gegebenenfalls abtöten und damit eine Virusinfektion verhindern oder andererseits die Viren selbst in bestimmten Phasen ihrer Ansiedlung behindern.

Eine Inaktivierung in vitro konnte ich nicht feststellen, da sich das Y-Virus aus einem Virus-Hemmstoff-Gemisch durch Ultrazentrifugieren unverändert vom Hemmstoff trennen ließ. Andererseits konnte ich in vitro nachweisen, daß auch eine Vereinigung von Hemmstoff und Virus möglich ist. Ultrazentrifugieren eines Virus-Hemmstoff-Gemisches verminderte im Vergleich zur reinen Hemmstofflösung die Hemmwirkung im Überstand; offenbar waren also Virusteilchen mit Hemmstoffpartikeln vereinigt sedimentiert. Nachträgliche Verdünnung eines Virus-Hemmstoff-Gemisches mit Wasser setzte die Hemmwirkung weniger herab als der Mischung vorangegangene Verdünnung. Diese Vereinigung von Hemmstoff und Virus kann freilich biologisch auch bedeutungslos sein, da sich Substanzen mit beispielsweise entgegengesetzten elektrischen Ladungen mit Viren vereinigen, ohne starke Inhibitoren zu sein (Bawden 1954). Wenn die Hemmwirkung auf einer Vereinigung von Hemmstoffteilchen und Virusteilchen beruht, muß man erwarten, daß zur vollkommenen Inaktivierung des Virus in hohen Viruskonzentrationen größere Hemmstoffmengen erforderlich sind als in niedrigen (Kassanis und Kleczkowski 1948). Meine Beobachtungen sprechen bis zu einem gewissen Grade für diese Beziehung zwischen Kartoffelhemmstoff- und Viruskonzentration.

Neben einer Reaktion zwischen Inhibitor und Virus in vitro muß mit der Wirkung des Knollenpreßsaftes auch in der Wirtspflanze gerechnet werden, da die Hemmwirkung auf die Läsionenausbildung in verschiedenen Wirtspflanzen unterschiedlich stark war (*Physalis floridana:* 12 %, *Solanum demissum*-Hybride A_6: 57 % Läsionen der Virus-Wasser-Mischung). Bawden (1954) glaubte, daß Hemmstoffe aus höheren Pflanzen allgemein keine Hemmwirkung auf Viren in den Pflanzen ausüben, aus denen sie isoliert wurden. Ich konnte jedoch 1957 eine Hemmwirkung des durch Temperatur und Licht induzierten Hemmstoffes aus *Physalis floridana* in dieser Pflanze selbst nachweisen. Auch Ragetli (1957) erreichte mit dem Nelkenhemmstoff bei genügend hoher Konzentration in Nelken selbst eine Infektionsbeeinträchtigung. Kartoffelknollenpreßsaft wirkte ebenfalls verhältnismäßig stark in Kartoffelknollen auf die Y-Virusaktivität. Aus der unterschiedlich starken Hemmwirkung in verschiedenen Pflanzen kann man ableiten, daß die Hemmung der Virusinfektion nicht nur auf einer Reaktion zwischen Virus und Hemmstoff in vitro, sondern vor allem auf einer Beeinflussung der Wirtszelle beruht, vielleicht in dem Sinne, daß diese durch den Inhibitor abstirbt und damit eine Infektion verhindert wird oder

durch Blockierung von Rezeptoren in der Wirtszelle. Beobachtungen liegen hierüber vorerst nicht vor.

Weiter ist zu fragen, ob die Hemmstoffaktivität in verschiedenen Kartoffelsorten mit ihrer Anfälligkeit für Y-Virus in Beziehung steht. Da die Hemmstoffaktivität einerseits von Pflanze zu Pflanze stark schwankt, andererseits die Unterschiede zwischen einzelnen Sorten oft nicht allzu groß erscheinen, kann der Hemmstoff nicht die Ursache der Sortenresistenz sein.

Dieser aktiven Resistenz steht noch eine passive zur Seite, die von GÄUMANN (1951) als „mangelnde Eignung einer Pflanze, als Wirt zu dienen" (Axenie), bezeichnet wird. Die Axenie beruht also auf Eigenschaften, welche die Wirtspflanze vor dem Zusammentreffen mit dem Parasiten besitzt. Es wird leichter sein, derartige Faktoren zu finden, als die Ursachen aktiver Resistenz nachzuweisen, die immer auf dem Zusammenwirken von Wirt und Parasit beruht, das darüber hinaus durch die jeweiligen Umweltverhältnisse beeinflußt wird. Stoffwechselphysiologische Veränderungen in der Wirtspflanze nach einer Virusinfektion lassen sich zwar in großer Zahl entdecken, meist aber schwierig deuten. „Je mehr die vielfältige Verflechtung verschiedenartiger Stoffwechselprozesse erkannt wird, je wahrscheinlicher es wird, daß relativ geringfügige Verschiebungen der Reaktionsbedingungen und energetische Beziehungen in der Zelle tiefgreifende Umsteuerungen zwischen möglichen Stoffwechselwegen auslösen können, um so problematischer wird der Versuch, auf Grund begrenzter Ergebnisse Einzelbeziehungen zu isolieren" (FUCHS 1958). Deshalb muß vorerst auch offen bleiben, ob die Beobachtung eines hemmenden Prinzips in der Kartoffelpflanze als Beispiel für die stoffliche Grundlage einer Axenie aufgefaßt werden kann. Vielleicht hängen im Vegetationsablauf auftretende Schwankungen in der Viruskonzentration von unterschiedlich starken Hemmstoffwirkungen ab. So ist diese allgemein zur Blütezeit in den oberen bis mittleren Blättern geringer als in jungen Pflanzen. BARTELS (1958) fand serologisch entsprechend in diesem Stadium eine besonders hohe Viruskonzentration im oberen Bereich der Kartoffelpflanze. Der Hemmstoff ist auch, wie wir sahen, vor allem in der äußeren Rindenzone konzentriert, in der umgekehrt nur eine sehr schwache Virusaktivität beobachtet wurde. Es bleibt abzuwarten, inwieweit die starken Schwankungen in der Virusvermehrung von Pflanze zu Pflanze einer Sorte mit deren ebenfalls unterschiedlichen Hemmwirkung übereinstimmt. Diese Parallelen, die allerdings auch nur zufällig sein können, und die Tatsache, daß der Hemmstoff auch unmittelbar in der Kartoffel wirkt, lassen den Gedanken aufkommen, ob er bei der „mangelnden Eignung der Kartoffel, als Wirt zu dienen", mitspricht.

Zusammenfassung

Die Virusaktivität im Preßsaft von Kartoffelblättern, Blüten, Knollenrinde und Keimen wurde durch einen Hemmstoff stark beeinträchtigt, dessen Auswirkung von den verschiedensten Bedingungen beeinflußt wird. Ein weiteres, schwächer hemmendes Prinzip ließ sich im Parenchym der Knolle bei niedri-

ger und hoher Temperatur und nach Verwundung nachweisen. Die Y-Virusinfektion führte zu keiner Hemmwirkung in der Knolle.

Der Hemmstoff aus der Knollenrinde ist ein Protein, an dem keine weitere Wirkgruppe gefunden werden konnte. Er wirkte auf die Y-Viruspartikeln in vitro und bei ihrer Ansiedlung in *Physalis floridana*, Tabak und in der Kartoffel selbst sowie auf das X-Virus in *Gomphrena globosa* und auf das Tabakmosaikvirus in *Nicotiana glutinosa*.

Summary

Observations on potato virus Y in the potato plant with particular reference to the tuber

II. Virus inhibiting substances in the potato plant

The virus activity in expressed sap of potato leaves, flowers, tuber skins and sprouts was strongly reduced by an inhibitor, the action of which is influenced by the most varied conditions. A further principle, with less pronounced inhibitory action, could be demonstrated in the parenchyma of the tuber at low and high temperatures and after wounding. Infection with virus Y did not lead to inhibitory action in the tuber.

The inhibitory substance is a protein, for which no further active groups have been found. It was active against virus Y particles in vitro and against its establishment in *Physalis floridana*, tobacco and in the potato itself, as well as against virus X in *Gomphrena globosa* and tobacco mosaic virus in *Nicotiana glutinosa*.

Literaturverzeichnis

Bartels, R., 1958: Die Konzentration des Kartoffel-Y-Virus in Kartoffelpflanzen. Zbl. Bakt. II, **111**, 185—190.

Bawden, F. C., 1954: Inhibitors and Plant Viruses. Advances in Virus Res. **2**, 31—57.

Fuchs, W. H., 1958: Weitere Beiträge zur pathologischen Physiologie der Pflanze. Verh. IV. Internat. Pflanzenschutz-Kongr., Hamburg **1957**, 101—104.

Gäumann, E., 1951: Pflanzliche Infektionslehre. Basel.

Guthrie, J. D., 1931: A method for the determination of peroxidase activity. J. Amer. Chem. Soc. **53**, 242—244.

Hooker, W. J., and W. S. Kim, 1959: Inhibitors of potato virus X in leaves of potatoes with different types of resistance to the virus. Amer. Potato J. **36**, 295—296.

Hoppe-Seyler/Thierfelder, 1955: Zuckerbestimmung mit Anthron nach Morris. Handb. physiol.- und pathol.-chem. Analyse, 10. Aufl., **3**, 1, 693—695.

Johnson, G., and L. A. Schaal, 1952: Relation of chlorogenic acid to scab resistance in potatoes. Science **115**, 627—629.

Kassanis, B., and A. Kleczkowski, 1948: The isolation and properties of a virus-inhibiting protein from *Phytolacca esculenta*. J. gen. Microbiol. **2**, 143—153.

Linskens, H. F., 1959: Papierchromatographie in der Botanik. Springer-Verlag, 2. Aufl.

Nienhaus, F., 1957: Untersuchungen über den Einfluß von Temperatur und Licht auf die Empfänglichkeit der Pflanzen für das Kartoffel-Y-Virus. Phytopath. Z. **30**, 189—224.

Ragetli, H. W. J., 1957: Onderzoekingen over een virusremstof voorkomend in *Dianthus caryophyllus* L. Werkingspectrum, Remmingsmechanisme en aard. T. Plantenziekten **63**, 245—344.

Willstätter, R., 1928: Untersuchungen über Enzyme, S. 575. Springer-Verlag, ref. Colowick, S. P., and N. O. Kaplan, 1955: Methods in Enzymology **2**, 823.

Kurze Mitteilungen

Aus dem Pflanzenschutzamt
der Landwirtschaftskammer Westfalen-Lippe in Münster/Westfalen
Direktor: Dr. A. Winkelmann

Das Vorkommen des Virus der Stecklenberger Krankheit im Pollen von *Prunus cerasus* L.

Von

Gisela Baumann

Nachdem von Ehlers und Moore (1957) sowie von Gilmer und Way (1960) über den Nachweis von Steinobstviren im Pollen von *Prunus*-Arten berichtet worden ist, lag es nahe, der Frage der Pollenübertragbarkeit auch für das Virus der Stecklenberger Krankheit der Sauerkirsche nachzugehen.[1])

Aus einer stark von der Stecklenberger Krankheit befallenen Anlage wurden von Sauerkirschen (Sorte „Schattenmorelle"), die die typischen Merkmale dieser Virose (Baumann und Klinkowski 1955) aufwiesen, Blüten entnommen. Mit 0,5%igem Coffein wurden Petalen und Antheren oder der bereits stäubende Pollen getrennt auf die Kotyledonen junger Gurkenpflanzen (Sorte „Delikateß") verrieben und die Symptomausprägung im Schalentest (Baumann 1961) beobachtet. Nach drei Tagen erschienen in den Versuchsreihen, in denen Antheren oder Pollen als Infektionsquellen gedient hatten, die gleichen Symptome wie auf den mit einer bekannten Herkunft der Stecklenberger Krankheit infizierten Kotyledonen: Kleine gelblichgrüne Ringe oder Flecke. In allen Versuchsreihen in denen Petalen verrieben worden waren und im Pollen einer Sauerkirsche, bei der im Test auf *Prunus avium* L. F 12/1 und *P. persica* Sieb. et Zucc. Virusbefall nicht festgestellt wurde, konnte das Virus nicht nachgewiesen werden.

Da Versuche zur mechanischen Übertragung der Stecklenberger Krankheit auf Sämlinge von *P. mahaleb* L. bisher erfolglos geblieben sind und das aus dem Pollen isolierte Virus daher nicht durch Pfropfübertragung von *P. mahaleb* auf andere *Prunus*-Arten identifiziert werden konnte, wurde versucht, seine

[1]) Die Untersuchungen wurden durch die Deutsche Forschungsgemeinschaft ermöglicht, der auch an dieser Stelle gedankt sei.

Identität durch vergleichende mechanische Übertragungen zu verschiedenen krautigen Pflanzen festzustellen. Mit den Pollenisolaten V 133, 134, 135 und der seit langem in Kultur befindlichen Herkunft 373 A der Stecklenberger Krankheit wurden folgende Pflanzenarten inokuliert: *Cucumis sativus* L., *Cucurbita pepo* L., *Chenopodium quinoa* L., *Petunia hybrida* hort., *Lamium album* L., *Nicandra physaloides* Bitter, *Chenopodium foetidum* Schrad., *Nicotiana tabacum* L. „Samsum" und *Solanum sisymbriifolium* Lam.

Auf *Cucumis sativus* riefen alle Herkünfte die bereits früher beschriebenen (Baumann 1956), für die Stecklenberger Krankheit typischen Symptome hervor. Eine weitere Wirtspflanze der Virose, *Cucurbita pepo* (Baumann 1959), reagierte in allen Versuchsreihen mit gelblichen, zum Teil nekrotisierenden Flecken auf dem ersten wahren Blatt, das in einigen Fällen abstarb. Auf *Lamium album* riefen die Herkünfte 373 A und V 134 schwache hellgrüne Ringe auf den jüngsten Blättern hervor, der spätere Zuwachs blieb symptomfrei. *Cheopodium quinoa* und *Petunia hybrida* reagierten auf alle Herkünfte mit den von Nemeth und Kegler (1960) und Kegler (1960) nach Infektion dieser Pflanzen mit der Stecklenberger Krankheit beobachteten Symptomen. Die vier anderen genannten Pflanzenarten, nach Untersuchungen von Kunze (1958) und Kegler (1960) sowie eigenen Feststellungen Wirtspflanzen der Pfeffinger Krankheit der Süßkirsche, konnten durch keine der verwendeten Herkünfte infiziert werden.

Aus den Ergebnissen der mechanischen Übertragungsversuche kann geschlossen werden, daß es sich bei dem aus Pollen von *Prunus cerasus* L. isolierten Virus um das der Stecklenberger Krankheit handelt. Die bereits früher festgestellte Samenübertragbarkeit dieser Virose (Baumann unveröff.), deren Häufigkeit 55 v. H. erreichen kann, dürfte mit dem hier mitgeteilten Befund im Einklang stehen.

Die Untersuchungen werden mit entsprechenden Bestäubungsversuchen fortgeführt.

Literaturverzeichnis

Baumann, G., 1956: Die Stecklenberger Krankheit, eine bisher nicht beobachtete Viruskrankheit der Sauerkirsche. T. Plantenziekten **62**, 51—56.

— —, 1959: Zur Frage der Identiät europäischer Kirschvirosen. Mitt. Biol. Bundesanstalt, H. 97, 81—85.

— —, 1961: Ein Schalentest für den Nachweis von Steinobstviren auf krautigen Pflanzen. Mitt. Biol. Bundesanstalt, H. 104, 21—25.

— —, und M. Klinkowski, 1955: Ein Beitrag zur Analyse der Obstvirosen des mitteldeutschen Raumes. Phytopath. Z. **25**, 55—71.

Ehlers, C. D., and J. D. Moore, 1957: Mechanical transmission of certain stone fruit viruses from *Prunus* pollen. Phytopathology **47**, 519—520.

Gilmer, R. M., and R. D. Way, 1960: Pollen transmission of necrotic ringspot and prune dwarf viruses in sour cherry. Phytopathology **50**, 624—625.

Kegler, H., 1960: Zur Differenzierung von Kirschenviren. Phytopath. Z. **38**, 209—213.

Kunze, L., 1958: Ein Virus der Tabak-Ringflecken-Gruppe von Süßkirsche. Phytopath. Z. **31**, 279—288.

Nemeth, M., und H. Kegler, 1960: Untersuchungen über das Vorkommen von Kirschenvirosen in Ungarn. Nachr.bl. dtsch. Pfl.schutzd. (Berlin), N. F. **14**, 110—113.

Aus dem Institut für Virusserologie
und dem Institut für landwirtschaftliche Virusforschung
der Biologischen Bundesanstalt, Braunschweig

Die Darstellung des carnation latent-Virus in hochgereinigter Form

Von

C. Wetter und H. L. Paul

Mit 2 Abbildungen

Von den gestreckten Pflanzenviren (Brandes und Wetter 1959) sind bisher nur wenige Arten in hochgereinigter Form dargestellt worden. Es handelt sich hierbei vornehmlich um solche mit einem hohen thermalen Inaktivierungspunkt wie z. B. TMV, Kartoffel-X-Virus und Tabakrattle-Virus. Von den labileren Viren, die hauptsächlich durch Blattläuse übertragen werden, wurde kürzlich das turnip mosaic-Virus in hochgereinigter Form gewonnen (Shepherd und Pound 1960). Bei eigenen Versuchen, einige dieser Viren für serologische Zwecke partiell zu reinigen, stellte sich heraus, daß das von Kassanis (1955) isolierte carnation latent-Virus (CLV) eine Butanol-Chloroform-Behandlung verträgt (Wetter 1960). Hiervon ausgehend wurde ein Reinigungsschema ausgearbeitet, nach dem das CLV bei relativ guter Ausbeute in hochgereinigter Form dargestellt werden kann. Darüber soll im folgenden berichtet werden.

Das CLV wurde auf *Dianthus barbatus* (Handelsmischung) kultiviert und meist durch Abreibung übertragen. In größeren Abständen wurden auch Übertragungen durch *Myzus persicae* eingeschaltet. Die infizierten Pflanzen zeigten keine Symptome. Sie ließen sich während des ganzen Jahres im Gewächshaus kultivieren und auch im Winter zu Reinigungen verwenden. Unter Gewächshausbedingungen kamen die Pflanzen kaum zur Blüte, wodurch die vegetative Entwicklung gefördert wurde.

Für die Vorreinigung des Saftes bewährte sich die Extraktion der chlorophyll- und lipoidhaltigen Bestandteile durch Äther und Tetrachlorkohlenstoff (Wetter 1960). Meistens konnte der Preßsaft hierdurch vollständig von allen grünen Substanzen befreit werden. Zur Denaturierung eines weiteren Teiles

Tabelle

Schema einer Reinigung von CLV

		[1]	[2]
	2250 g Blätter von *Dianthus barbatus* infiziert mit CLV		
	Saft in Fruchtpresse auspressen durch ein Tuch filtrieren + Ascorbinsäure 0,2 % + Na_2SO_3 0,2 % 1270 ml Rohsaft	512	256
Ätherphase	+ 1270 ml Äther schütteln bis zur Koagulation 15 min 2700 g zentrifugieren wäßrige Phase		
CCl_4-Phase	+ 1270 ml CCl_4 5 min schütteln 15 min 2700 g zentrifugieren 1030 ml vorgereinigter Saft	256	128
Sediment	20 min 3500 g zentrifugieren, pH 5,9	256	128
Sediment	+ 220 ml 0,5 mol Phosphatpuffer pH 7,5 Saft pH 7,0 + 100 ml (= 8 %) Butanol 16 Stunden bei 4 °C 15 min 2700 g zentrifugieren		
CCl_4-Phase	+ 1030 ml CCl_4 5 min schütteln 15 min 2700 g zentrifugieren	256	32
Sediment	20 min 3500 g zentrifugieren	256	32
Überstand	120 min Spinco Rotor 21 (44 300 × g) zentrifugieren Sediment in 70 ml 0,2 mol Boratpuffer pH 7 gelöst		
Sediment	Dialyse gegen 0,02 mol Boratpuffer in Kälte 10 min 20 000 g zentrifugieren + 170 ml 0,02 mol Boratpuffer	1024	0
Überstand	90 min Spinco Rotor 30 (78 400 × g) zentrifugieren Sediment in 100 ml 0,02 mol Boratpuffer lösen		
Sediment	10 min 20 000 g zentrifugieren	2048	0
Überstand	90 min Spinco Rotor 40 (105 000 × g) zentrifugieren Sediment in 100 ml 0,02 mol Boratpuffer lösen		
Sediment	10 min 20 000 g zentrifugieren	1024	0
Überstand	90 min Spinco Rotor 40 zentrifugieren Sediment in 10 ml 0,02 mol Boratpuffer lösen		
Sediment	10 min 20 000 g zentrifugieren	16384	0
	50 bis 60 mg reines Virus		

[1]) Verdünnungsendpunkte des CLV gegen CLV-Antiserum (reziproke Werte).

[2]) Verdünnungsendpunkte von Normalproteinen getestet mit einem Antiserum, das gegen Normalproteine aus dem Saft gesunder *Dianthus barbatus*-Pflanzen hergestellt worden war.

wirtspflanzeneigener Stoffe wurde dann eine längere Inkubation mit 8% Butanol bei 4 °C angeschlossen. Hierdurch wurde in schonender Weise eine gute Trennung des CLV von störenden Substanzen erzielt. Wesentlich für eine gute Ausbeute an Virus ist die Wahl eines zum Suspendieren geeigneten Puffers. Der häufig verwendete Phosphatpuffer ist für CLV ein ungünstiges Medium. Die besten Ergebnisse ließen sich mit neutralem Boratpuffer erzielen, der auch für das turnip mosaic-Virus eine gute Lösungsfähigkeit besitzt (SHEPHERD und POUND 1960).

Das Schema (Tab.) zeigt einen vollständigen Präparationsgang. Da die Prozedur langwierig ist, wurde versucht, sie durch Auslassen verschiedener Reinigungsstufen abzukürzen. Diese Versuche zeigten aber, daß dann eine größere Anzahl von Differentialzentrifugationen nötig war, um den gleichen Grad der Reinheit zu erreichen. Nach der ersten Ultrazentrifugation wurde das Virussediment in 0,2 m Boratpuffer aufgenommen und dann gegen 0,02 m Puffer dialysiert. Hierdurch scheint das Ausmaß der Aggregationen vermindert zu werden. Im Durchschnitt betrugen die Ausbeuten 40 bis 50 mg Virus pro 1 Liter Preßsaft. Versuche, das Virus mittels Ammonsulfat oder verdünnter Essigsäure zu fällen und zu konzentrieren, führten nicht zum Ziel.

Gereinigtes CLV sedimentierte bei Zentrifugationen im Dichtegradienten (10 bis 50% Saccharose, Spinco Rotor SW 25, I, 63 000 xg, Dauer: 2 Stunden) einheitlich. Die Zone des reinen Virus lag an der Stelle, an der bei Zentrifugationen von vorgereinigtem, infektiösem Saft die Zone mit dem höchsten Virusgehalt lag (Abb. 1). Gesunden Nelkensäften fehlte diese Zone. Sedimentationsversuche in der analytischen Ultrazentrifuge (Phywe) mit Philpot-Svensson-Optik zeigten einen überscharfen Hauptgipfel und einen sehr flachen, etwa doppelt so schnell wandernden Nebengipfel. Dieser wurde sehr wahrscheinlich von Aggregaten des CLV hervorgerufen, während der Hauptgipfel vermutlich von dem nicht-aggregierten CLV erzeugt wird. Die Form des Hauptgipfels läßt den Schluß zu, daß die ihn hervorrufenden Partikeln

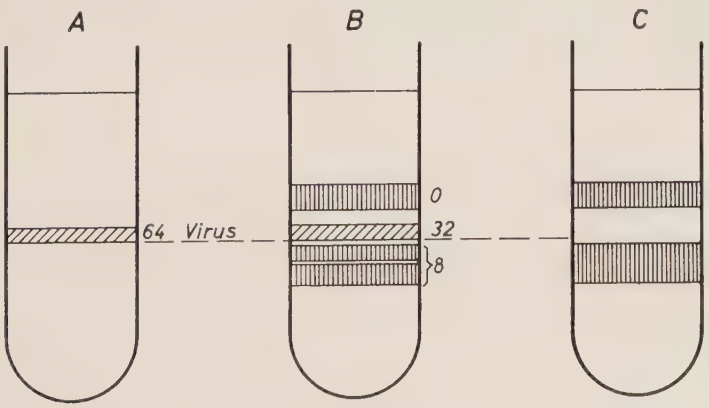


Abb. 1. Ergebnisse von Dichtegradientenzentrifugationen: A = gereinigtes CLV; B = infektiöser Saft von *Dianthus barbatus;* C = gesunder Saft von *D. barbatus.* Die Zahlen geben die reziproken Werte der Verdünnungsendpunkte im serologischen Test an

einen von der Viruskonzentration abhängigen Sedimentationskoeffizienten besitzen.

Die für die Lichtstreuung korrigierte UV-Lichtabsorption (PAUL 1959) zeigte eine für Nukleoproteide typische Form mit einem Maximum bei 260 und einem Minimum bei 245 mμ. Vorläufige Bestimmungen von E_{280}/E_{260} und E_{max}/E_{min} ergaben Werte von etwa 0,75 und 1,23. Der Nukleinsäuregehalt dürfte nach chemischen Bestimmungen zwischen 4 und 6% liegen. Genaue Angaben über verschiedene physikalische und chemische Daten sollen an anderer Stelle mitgeteilt werden.

Die elektronenmikroskopische Untersuchung gereinigter Virussuspensionen zeigte, daß das CLV von sichtbaren Verunreinigungen frei war (Abb. 2)[1]).

Abb. 2. Elektronenmikroskopische Aufnahme eines nach dem angegebenen Schema gereinigten CLV-Präparates. Vergr. 20 000/1 (Aufnahme Dr. BRANDES)

Serologisch reagierte CLV-Antiserum (WETTER 1960) spezifisch mit verdünnten Lösungen des gereinigten Virus. Entsprechend den von BAGNALL et al. (1959) angegebenen Verwandtschaftsverhältnissen reagierten auch Antiseren gegen die Kartoffelviren M und S mit demselben Antigen. Positive Reaktionen wurden neuerdings außerdem erhalten, wenn red clover vein mosaic-Virus- und pea streak-Virus-Antiserum gegen gereinigtes CLV-Antigen getestet wurden. Es bedarf weiterer Untersuchungen, diese Beziehungen zu sichern.

Zur Prüfung der Infektiosität des gereinigten Virus wurden CLV-Suspensionen gegen 0,05 m Phosphatpuffer (pH 7) über Nacht bei 4° C dialysiert, da

[1]) Herrn Dr. BRANDES danken wir für die elektronenmikroskopische Untersuchung.

wirtspflanzeneigener Stoffe wurde dann eine längere Inkubation mit 8% Butanol bei 4 °C angeschlossen. Hierdurch wurde in schonender Weise eine gute Trennung des CLV von störenden Substanzen erzielt. Wesentlich für eine gute Ausbeute an Virus ist die Wahl eines zum Suspendieren geeigneten Puffers. Der häufig verwendete Phosphatpuffer ist für CLV ein ungünstiges Medium. Die besten Ergebnisse ließen sich mit neutralem Boratpuffer erzielen, der auch für das turnip mosaic-Virus eine gute Lösungsfähigkeit besitzt (Shepherd und Pound 1960).

Das Schema (Tab.) zeigt einen vollständigen Präparationsgang. Da die Prozedur langwierig ist, wurde versucht, sie durch Auslassen verschiedener Reinigungsstufen abzukürzen. Diese Versuche zeigten aber, daß dann eine größere Anzahl von Differentialzentrifugationen nötig war, um den gleichen Grad der Reinheit zu erreichen. Nach der ersten Ultrazentrifugation wurde das Virussediment in 0,2 m Boratpuffer aufgenommen und dann gegen 0,02 m Puffer dialysiert. Hierdurch scheint das Ausmaß der Aggregationen vermindert zu werden. Im Durchschnitt betrugen die Ausbeuten 40 bis 50 mg Virus pro 1 Liter Preßsaft. Versuche, das Virus mittels Ammonsulfat oder verdünnter Essigsäure zu fällen und zu konzentrieren, führten nicht zum Ziel.

Gereinigtes CLV sedimentierte bei Zentrifugationen im Dichtegradienten (10 bis 50% Saccharose, Spinco Rotor SW 25, I, 63 000 xg, Dauer: 2 Stunden) einheitlich. Die Zone des reinen Virus lag an der Stelle, an der bei Zentrifugationen von vorgereinigtem, infektiösem Saft die Zone mit dem höchsten Virusgehalt lag (Abb. 1). Gesunden Nelkensäften fehlte diese Zone. Sedimentationsversuche in der analytischen Ultrazentrifuge (Phywe) mit Philpot-Svensson-Optik zeigten einen überscharfen Hauptgipfel und einen sehr flachen, etwa doppelt so schnell wandernden Nebengipfel. Dieser wurde sehr wahrscheinlich von Aggregaten des CLV hervorgerufen, während der Hauptgipfel vermutlich von dem nicht-aggregierten CLV erzeugt wird. Die Form des Hauptgipfels läßt den Schluß zu, daß die ihn hervorrufenden Partikeln

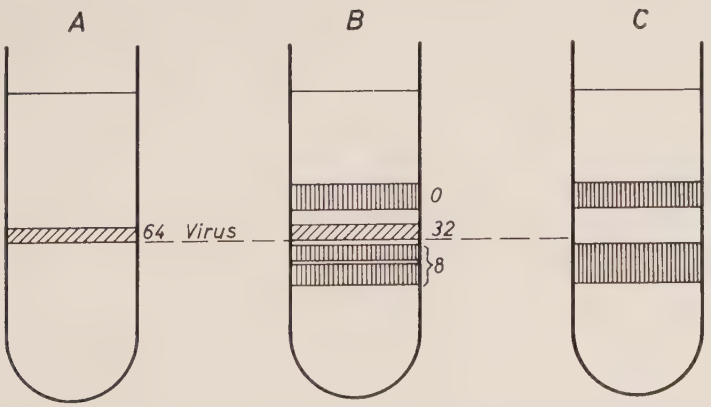


Abb. 1. Ergebnisse von Dichtegradientenzentrifugationen: A = gereinigtes CLV; B = infektiöser Saft von *Dianthus barbatus;* C = gesunder Saft von *D. barbatus.* Die Zahlen geben die reziproken Werte der Verdünnungsendpunkte im serologischen Test an

einen von der Viruskonzentration abhängigen Sedimentationskoeffizienten besitzen.

Die für die Lichtstreuung korrigierte UV-Lichtabsorption (PAUL 1959) zeigte eine für Nukleoproteide typische Form mit einem Maximum bei 260 und einem Minimum bei 245 mμ. Vorläufige Bestimmungen von E_{280}/E_{260} und E_{max}/E_{min} ergaben Werte von etwa 0,75 und 1,23. Der Nukleinsäuregehalt dürfte nach chemischen Bestimmungen zwischen 4 und 6% liegen. Genaue Angaben über verschiedene physikalische und chemische Daten sollen an anderer Stelle mitgeteilt werden.

Die elektronenmikroskopische Untersuchung gereinigter Virussuspensionen zeigte, daß das CLV von sichtbaren Verunreinigungen frei war (Abb. 2)[1]).

Abb. 2. Elektronenmikroskopische Aufnahme eines nach dem angegebenen Schema gereinigten CLV-Präparates. Vergr. 20 000/1 (Aufnahme Dr. BRANDES)

Serologisch reagierte CLV-Antiserum (WETTER 1960) spezifisch mit verdünnten Lösungen des gereinigten Virus. Entsprechend den von BAGNALL et al. (1959) angegebenen Verwandtschaftsverhältnissen reagierten auch Antiseren gegen die Kartoffelviren M und S mit demselben Antigen. Positive Reaktionen wurden neuerdings außerdem erhalten, wenn red clover vein mosaic-Virus- und pea streak-Virus-Antiserum gegen gereinigtes CLV-Antigen getestet wurden. Es bedarf weiterer Untersuchungen, diese Beziehungen zu sichern.

Zur Prüfung der Infektiosität des gereinigten Virus wurden CLV-Suspensionen gegen 0,05 m Phosphatpuffer (pH 7) über Nacht bei 4 °C dialysiert, da

[1]) Herrn Dr. BRANDES danken wir für die elektronenmikroskopische Untersuchung.

Boratpuffer eine Infektion verhindert. Das Präparat wurde stufenweise verdünnt und auf *Dianthus barbatus* abgerieben. Die beimpften Pflanzen wurden etwa vier Wochen später serologisch getestet. In mehreren Versuchen stimmte die Infektiosität der Virussuspension (10^{-3} bis 10^{-4}) ungefähr mit dem serologisch bestimmten Verdünnungsendpunkt überein. Da der Infektiositätstest im allgemeinen empfindlicher als der serologische Test ist, wird die relativ geringe Infektiosität möglicherweise darauf zurückzuführen sein, daß ein Teil des Virus nicht infektiös ist. Mit gereinigtem Virus konnte auch *Chenopodium amaranticolor* infiziert werden; die Pflanzen zeigten auf den beimpften Blättern kleine Lokalläsionen. Wie eine serologische und eine elektronenmikroskopische Untersuchung ergab, wird die Infektion systemisch, ohne daß Symptome auf den Folgeblättern sichtbar werden.

Nachdem es gelungen war, das CLV in reiner Form zu gewinnen, wurde versucht, mit derselben Methode die Kartoffelviren M und S zu reinigen. Diese Versuche führten jedoch nicht zum Erfolg, obwohl das Schema in vielfacher Hinsicht abgeändert wurde. Es zeigte sich dabei, daß diese beiden Viren durch Butanol inaktiviert werden (vgl. Wetter 1960) und daß außerdem Boratpuffer für sie kein geeignetes Suspensionsmedium ist. Ähnlich wie zwischen CLV, M- und S-Virus in den biologischen Eigenschaften Unterschiede bestehen (Bagnall et al. 1959), so gibt es solche auch in der Stabilität während der Präparation.

Summary

Carnation latent virus was purified from leaves of infected *Dianthus barbatus*. For preliminary clarification expressed sap was extracted by ether and carbon tetrachloride followed by incubation with 8 per cent n-butanol. Differential centrifugation of the clarified sap yielded a purified preparation which contained a nucleoprotein with a nucleic acid content of about 4 to 6 per cent. When various buffers were tested for their ability to resuspend virus pellets during the course of differential centrifugation, borate buffer was found to be a suitable medium. No infectivity could be demonstrated, however, if the virus was suspended in this buffer. Preparations regained infectivity after dialysis against phosphate buffer. Density gradient centrifugation of purified virus revealed a single zone which could be shown to contain infectious virus. Two schlieren peaks were obtained in the analytical ultracentrifuge. It is suggested that the main peak is caused by non-aggregated virus particles and the side peak by aggregated ones. Determinations of E_{280}/E_{260} and E_{max}/E_{min} gave values of about 0.75 and 1.23 respectively.

Literaturverzeichnis

Bagnall, R. H., C. Wetter, and R. H. Larson, 1959: Differential host and serological relationships of potato virus M, potato virus S, and carnation latent virus. Phytopathology **49**, 435—442.

Brandes, J., and C. Wetter, 1959: Classification of elongated plant viruses on the basis of particle morphology. Virology **8**, 99—115.

— —, — —, R. H. Bagnall, and R. H. Larson, 1959: Size and shape of the particles of potato virus S, potato virus M, and carnation latent virus. Phytopathology **49**, 443—446.

Kassanis, B., 1955: Some properties of four viruses isolated from carnation plants. Ann. appl. Biol. **43**, 103—113.

Paul, H. L., 1959: Die Bestimmung des Nukleinsäuregehaltes pflanzlicher Viren mit Hilfe einer spektrophotometrischen Methode. Z. Naturforsch. **14 b**, 427—432.

Shepherd, R. J., and G. S. Pound, 1960: Purification of turnip mosaic virus. Phytopathology **50**, 797—803.

Wetter, C., 1960: Partielle Reinigung einiger gestreckter Pflanzenviren und ihre Verwendung als Antigene bei der Immunisierung mittels Freundschem Adjuvans. Arch. Mikrobiol. **37**, 278—292.

Phytopathologisches Institut der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg
Direktor: Prof. Dr. M. Klinkowski

Über das Auftreten der Kragenfäule in Mitteldeutschland

Von

L. Behr

Mit 3 Abbildungen

An der Stammbasis zehn Jahre alter Apfelspindelbüsche, die in einer Plantage in Hohenthurm bei Halle (Saale) stehen, wurden im Laufe der Vegetationsperiode 1961 Schäden bemerkt, die ihrem Aussehen nach auf das Vorliegen der Kragenfäule schließen ließen. Bekanntlich handelt es sich dabei um eine Krankheit, deren Ursache der Pilz *Phytophthora cactorum* (Leb. et Cohn) Schroet. ist und die sich seit 1950 innerhalb Deutschlands nur auf die Obstbaugebiete der Bundesrepublik, speziell des Rheins und seiner Nebentäler, beschränkt hat (Braun und Kröber 1958). Obwohl die Krankheitssymptome, dem bloßen Auge sichtbar, gut mit den von Braun und Kröber beschriebenen übereinstimmten, lag es nahe, die auf *Phytophthora cactorum* lautende Diagnose zunächst in Zweifel zu ziehen. Bekanntlich müssen nach den genannten Autoren für das Auftreten der Kragenfäule Witterungsbedingungen erfüllt sein, wie sie im westlichen Westdeutschland angetroffen werden. Dabei sind anhaltende, über 17 bis 18 °C liegende Temperaturen und stärkere, aufeinanderfolgende Niederschläge ausschlaggebend. Da aber Halle mit der sich nord- und nordostwärts anschließenden Bördelandschaft im Regenschatten des Harzes liegt und mit einer jährlichen Niederschlagsmenge von durchschnittlich 488 mm ein ausgesprochenes Trockengebiet darstellt, konnte zunächst mit der Möglichkeit eines Auftretens der Kragenfäule gerade in diesen Gebieten nicht gerechnet werden. Eher hätte man an eine Einschleppung des Krankheitserregers in die mitteldeutschen Obstbaugebiete des Elbtales denken müssen, da dort die Voraussetzungen für einen Ausbruch dieser Krankheit nicht wesentlich ungünstiger sind als in den Tälern des Rheins und seiner Nebenflüsse (Behr 1961).

Trotzdem lag es aus mehr als einem Grunde nahe, die bei Halle an Äpfeln aufgetretene Stammbasiskrankheit als *Phytophthora cactorum* zu diagnostizieren. Sehr auffallend waren die großen, rissigen, schwach eingefallenen und damit sich vom gesunden Gewebe deutlich absetzenden Borke- und Rindenpartien, die den gesunden Teilen gegenüber eine etwas dunklere Farbe aufwiesen.

Hatte sich dieses Symptom über die ganze Stammperipherie ausgedehnt, so machten sich in der Krone Folgesymptome bemerkbar, die zu rascher Laubverfärbung und vorzeitigem Laubfall führten. H[illegible]und da war vorauszusehen, daß solche Bäume innerhalb kurzer Zeit zug[illegible]e gehen würden. Wurde die noch dünne Borkeschicht entfernt und die darunter befindliche Rinde angeschnitten, so sah man, daß sie über große Flächen braun verfärbt war (Abb. 1). Diese beiden Befunde sowie die Feststellung, daß sich die Krankheit — soweit bis jetzt zu beurteilen war — ausschließlich auf die Sorte „Berlepsch" (auf *Malus* IX stehend) beschränkte, ließ an der ursprünglich gestellten Diagnose kaum noch einen Zweifel offen. Aus Infektionsversuchen, die während der Jahre 1959 und 1960 an einer größeren Anzahl von Apfelsorten durchgeführt worden waren, hatte sich nämlich ergeben, daß „Berlepsch" neben einigen anderen Sorten zu den anfälligen bis hochanfälligen des Apfelsortimentes gezählt werden muß (BEHR 1961). Eindeutige Klarheit über die Identität des Erregers erbrachte schließlich seine Isolation aus krankem Rindengewebe. Sie erfolgte durch Übertragung kleiner Gewebsfragmente in sterile Fruchtsegmente, die während der Dauer des Versuches unter aseptischen Bedingungen bei 23 °C in Feuchtschalen gehalten wurden (Einzelheiten vgl. bei BEHR 1960). Blieben die nichtinfizierten Kontrollsegmente unverändert, so war bei den mit einer Reinkultur des Erregers (aus der Stammsammlung des Instituts) infizierten Früchten bereits nach 48 Stunden eine über große Partien

Abb. 1. Stammbasis eines Apfelbusches, Sorte „Berlepsch", in Hohenthurm. Rinde angeschnitten: der gebräunte, von *Phytophthora cactorum* befallene Bezirk hebt sich deutlich von der noch gesunden Rinde (hell) ab. Phot. MOHR

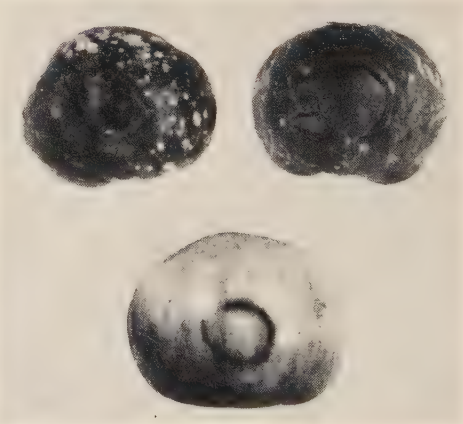


Abb. 2. Oben links: Apfel, mit Myzel von *Phytophthora cactorum* infiziert. Oben rechts: Apfel, mit *Phytophthora*-kranker Rinde infiziert. Unten: Apfel nicht infiziert (Kontrolle). Phot. MOHR

sich ausbreitende Braunfäule zu erkennen. Einen Tag später wuchs der Pilz auf der Oberfläche des faulenden Fruchtsegmentes in Gestalt weißer Tupfen, die aus Hyphen und einer gr[illegible]n Zahl von Oogonien, Antheridien und Oosporen bestanden. Das gleiche ze[illegible] sich an den mit Rindenstücken infizierten Fruchtsegmenten; es dauerte hier jedoch sieben bis acht Tage, bevor die geschilderten Symptome deutlich sichtbar wurden (Abb. 2) und die Fruktifikationsorgane einschließlich zahlreicher Sporangien nachgewiesen werden konnten. In welch großer Menge sie entstanden, zeigt Abbildung 3.

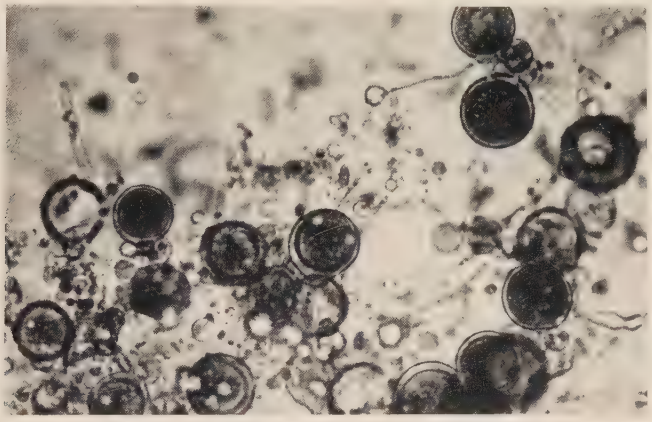


Abb. 3. Hyphen und Oogonien von *Phytophthora cactorum* (Leb. et Cohn) Schroet., auf mit befallener Rinde infizierten Früchten gewachsen

Die hier mitgeteilten Befunde und Versuchsergebnisse haben das Vorkommen der Kragenfäule am Apfel auch in Mitteldeutschland unter Beweis gestellt. Ihr Auftreten ist, abgesehen von der damit verbundenen Gefahr der Weiterverbreitung, insofern bemerkenswert, als ein Ausbruch der Krankheit, wie bereits erwähnt, an andere klimatische Verhältnisse gebunden schien, als sie hier in den Gebieten relativ geringer Niederschläge und niedriger Luftfeuchtigkeit herrschen. Vielleicht hat der regenreiche Sommer des Jahres 1961 den Pilz in seiner Massenproduktion keimfähiger und aggressiver Zoosporen begünstigt.

Literaturverzeichnis

Behr, L., 1960: *Stemphylium botryosum* Wallr. als Erreger einer Lagerfäule am Apfel in Deutschland. Phytopath. Z. 37, 245—251.

— —, 1961: Untersuchungen über die Resistenz und Anfälligkeit mehrerer Apfelsorten gegenüber *Phytophthora cactorum* (Leb. et Cohn) Schroet., dem Erreger der Kragenfäule. Wiss. Z. Martin-Luther-Univ. Halle-Wittenberg, Math.-naturwiss. Reihe 10, 1249—1254.

Braun, H., und H. Kröber, 1958: Untersuchungen über die durch *Phytophthora cactorum* (Leb. u. Cohn) Schroet. hervorgerufene Kragenfäule des Apfels. Phytopath. Z. 32, 35—94.

Aus dem Institut für Phytopathologie Aschersleben
der Biologischen Zentralanstalt
der Deutschen Akademie der Landwirtschaftswissenschaften zu Berlin
Direktor: Prof. Dr. M. Klinkowski

Nachweis stäbchenförmiger Viruspartikeln in Knospen von Hopfenfechsern

(Vorläufige Mitteilung)

Von

H. E. Schmidt und H. B. Schmidt

Mit 2 Abbildungen

Rademacher, Weil und Nuber (1958) stellten fest, daß die elektronenmikroskopische Darstellung stäbchenförmiger Viruspartikeln des Hopfens infolge der starken Verschmutzung der Präparate größere Schwierigkeiten verursacht. Čech und Pozděna (1960) konnten das Virus der infektiösen Sterilität des Hopfens nach gelungener Reindarstellung elektronenoptisch abbilden. Zur Ausarbeitung eines für Serienuntersuchungen geeigneten elektronenmikroskopischen Nachweisverfahrens stäbchenförmiger Viruspartikeln des Hopfens bedienten wir uns der Tauchmethode nach Brandes (1957). Es wurde der Versuch unternommen, die Virusdiagnose bereits im Winterhalbjahr vor Vegetationsbeginn zu ermöglichen. Nach im Sommer 1960 durchgeführter Bonitierung der Hopfenpflanzen auf virusverdächtige Erscheinungen (Abb. 1) wurden im Januar 1961 von 20 verschiedenen Fechsern 0,5 bis 1 cm lange Knospen entnommen, sorgfältig gewaschen, nach Entfernung der Hüllblätter mit einer Rasierklinge zugespitzt und in einen im Blockschälchen befindlichen Tropfen Bidest getaucht. Danach erfolgte eine Verdünnung im Verhältnis 1 : 2 bis 1 : 5. Die Flüssigkeit wurde auf mit Zaponlack bespannte Objektträger aufgetragen. Nach der Schrägbedampfung mit Palladium (Bedampfungswinkel = 30 °) konnten bei Durchsicht der Objektträger im Elektronenmikroskop (Elmi D des VEB Carl Zeiss, Jena) in den Präparaten von zwölf Fechsern stäbchenförmige Viruspartikeln aufgefunden werden (Abb. 2). Diese waren in zehn Kontrollen von Knospen gesunder Wildhopfensämlinge nicht nachweisbar. Durch Vermessung von

350 Stäbchen wurden eine Partikellänge von etwa 682 mμ und eine Dicke von etwa 22 mμ ermittelt. Nach Austrieb der Fechser wurden vom gleichen Ausgangsmaterial in derselben Weise von Blattstielen erhaltene Tauchpräparate untersucht und grundsätzlich gleiche Ergebnisse erzielt. Hier lag jedoch eine stärkere Verschmutzung vor als bei den im Winter angefertigten Präparaten.

Abb. 1. Hopfenblatt mit typischen Deformationen und starker Chlorose

Die Tauchmethode erscheint geeignet zur Frühdiagnose stäbchenförmiger Viruspartikeln des Hopfens. Kugelförmige Viren dürfen auf Grund des Vorkommens zahlreicher sphärischer Partikeln mit dieser Methode nicht nachzuweisen sein (Schmidt, Kegler und Opel, im Druck). Über die Identifizierung der aufgefundenen Viruspartikeln und die Arbeitssicherheit des elektronenoptischen Nachweises wird an anderer Stelle berichtet.

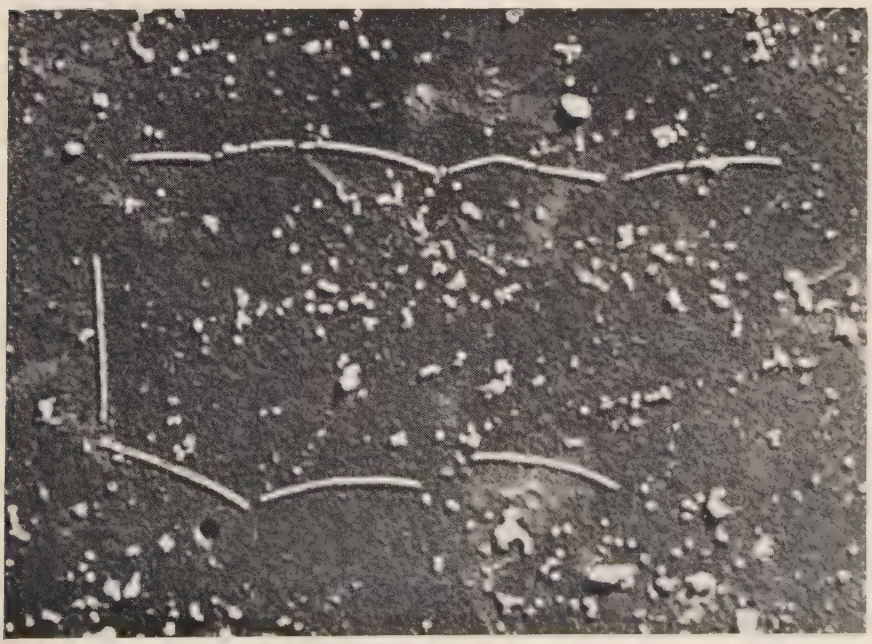


Abb. 2. Stäbchenförmige Viruspartikeln im Tauchpräparat einer kranken Fechserknospe des Hopfens, Vergrößerung: 30 600 : 1

Literaturverzeichnis

Brandes, J., 1957: Eine elektronenmikroskopische Schnellmethode zum Nachweis faden- und stäbchenförmiger Viren, insbesondere in Kartoffeldunkelkeimen. Nachr.bl. dtsch. Pfl.schutzd., Braunschweig, **9**, 151—152.

Čech, M., und J. Pozděna, 1960: Über einige Eigenschaften des Virus der infektiösen Sterilität des Hopfens. Preslia **32**, 417.

Rademacher, B., B. Weil und K. Nuber, 1958: Untersuchungen über Krankheitserscheinungen an Hopfen (*Humulus lupulus* L.) im Tettnanger Anbaugebiet. Z. Pflanzenkrankh. **65**, 272—279.

Schmidt, H. B., H. Kegler und H. Opel, 1961: Zur Problematik der Reindarstellung kugelförmiger Viren. Zbl. Bakt., Hyg. Abt. II (im Druck).

Besprechungen

Clowes, F. A. L., Apical meristems. Bot. Monographs Vol. 2. Verl. Blackwell, Oxford 1961. 217 S., 42 Textabb., 32 Taf., Preis 37 s 6 d.

Bei biologischen Objekten ist die Formenmannigfaltigkeit meistens größer als Typisierungsversuche es zulassen. Während der wissenschaftlichen Bearbeitung eines solchen Gegenstandes zeigt es sich daher häufig, daß der Rahmen der zunächst gefundenen Regeln bald nicht mehr ausreicht. Daß nicht alle höheren Pflanzen mit einer Scheitelzelle wachsen, ist seit langem erwiesen. Daß auch die mit einer prospektiven Bedeutung belasteten HANSTEIN'schen Termini (Dermatogen, Periblem, Plerom), nicht allgemein anwendbar sind, wurde allmählich bekannt. Für das Gebiet der Scheitelmeristeme liegt nun ein verdienstvoller Versuch von CLOWES vor, die auch hier vorhandene strukturelle Vielfalt nicht mehr in Typen einzuordnen, sondern sie auf wenige einfache und übersehbare Grundphänomene zurückzuführen.

Entsprechend dem bei den Kormophyten vorhandenen bipolaren Wachstum ist auch die Gliederung des Buches in Sproß- und Wurzelmeristeme vorgenommen worden. Im ersten Teil erhält man Auskunft über die bei den einzelnen Pflanzen sehr unterschiedliche anatomische Struktur des Sproßscheitels sowie über Ort und Verlauf der Zellteilungen. Zur Charakterisierung der Strukturen des Vegetationskegels — soweit sie sich nicht auf eine Scheitelzelle zurückführen lassen — wird die Tunica-Corpus-Konzeption von BUDER und SCHMIDT als immer noch vielseitig anwendbare rein topographische Kennzeichnung des Scheitels befürwortet. Die Zellteilungsfrequenz hat man oft durch Analyse der Mitosehäufigkeit am fixierten Objekt ermittelt. Die Brauchbarkeit dieser Methodik muß sehr kritisch betrachtet werden, zumal wir heute aus Vitalbeobachtungen am Scheitel wissen, daß die Teilung von Zellen innerhalb des gleichen Gewebes von unterschiedlicher Dauer sein kann. Eindeutiger sind daher die Ergebnisse, die Verfasser durch den Nachweis des Einbaus markierter Vorstufen in die DNS erhalten hat. Danach sind sowohl die Scheitelzelle der Farne als auch der Spitzenbezirk des Vegetationskegels Hauptorte der Zellteilung. Das Vorhandensein eines teilungsinaktiven „méristème d'attente", wie es von der französischen Schule postuliert wird, hat sich danach nicht bestätigt. In gesonderten Abschnitten werden die mit den Vorgängen am Scheitelmeristem zusammenhängenden Fragen der Differenzierung des Leitgewebes, der Entwicklung von Blattanlagen und Achselknospen, der Bildung von Chimären sowie das Dickenwachstum und die Entwicklung der floralen Phase behandelt. Ein eigenes Kapitel ist dem Scheitel der Gymnospermen gewidmet. Da auch die Wurzelspitze im wesentlichen aus zwei übereinanderliegenden, relativ selbständigen Gewebekomponenten aufgebaut ist, läßt sie sich mit der Sproßspitze direkt vergleichen. Auf einen nicht populär gewordenen Vorschlag SCHÜEPPS (1917) zurückgehend könnte man sie als „Körper" und „Kappe" bezeichnen. Die Kappe unterscheidet sich von der Tunica dadurch, daß die Zahl ihrer Schichten zur Spitze hin etwa in dem Maße zunimmt, wie sie außen an der Kalyptra verbraucht wird, während die Zahl der Tunicaschichten konstant bleibt. Zwischen Körper und Kappe kann es in vielen Fällen fließende Übergänge geben; die Grenze kann aber auch scharf markiert sein wie bei den Gräsern, bei denen die Wurzelhaube allein zur Kappe gehört. Es gibt also auch für den Wurzelpol keinen einheitlichen Scheitelbauplan. Die Untersuchungen des Verfassers zur Analyse der Teilungsfrequenz mit Hilfe der Autoradiographie konnten eindeutig zeigen, daß die Wurzelspitze — von Embryonalstadien abgesehen — ein teilungsinaktives ruhendes Zentrum (= „quiescent centre") dort besitzt, wo man bisher das Zentrum der meristematischen Tätigkeit gesucht hat.

An der Oberfläche dieses ruhenden Bezirkes befindet sich das eigentliche Promeristem, das basipetal den „Körper" und akropetal die „Kappe" aufbaut. Weitere Abschnitte berichten von der Embryonalentwicklung, der Bildung von Seitenwurzeln und von der anatomischen Differenzierung, die oft mit Polyploidisierung verbunden ist, und über die Ergebnisse der chemischen Analyse der einzelnen Regionen. Ausblicke auf zukünftig mögliche Leistungen der biochemischen und der elektronenoptischen Methodik beschließen das Werk, das durch die logische Entwicklung seiner Gedankengänge und durch die klare Sprache auch didaktisch von hohem Wert ist.

Clowes ist damit eine wirklich allgemein gültige Darstelllung von den Vorgängen an den Scheitelpunkten der Kormophyten gelungen, die in stetem Zusammenhang mit den Ergebnissen der modernen experimentellen Forschung alle aktuellen Probleme berührt. Man darf erleichtert feststellen, daß, aus dieser Sicht betrachtet, ein Teil der älteren Literatur ohne Schaden entbehrlich zu sein scheint. Die sachlich konzentrierte Bearbeitung des Stoffes macht dieses Buch auch für den Praktiker empfehlenswert und notwendig, wenn er etwas über die dynamischen Prozesse beim Wachstum seiner Pflanzen erfahren will, zumal in deutscher Sprache kürzlich ein Werk ähnlichen Inhalts erschienen ist (Handbuch der Pflanzenanatomie, Band VIII, 3), das in seiner einseitig stilisierenden und etwas dogmatischen Diktion den heute vorliegenden Tatsachen nicht mehr ganz gerecht wird und den vierfachen Preis kostet.

Thielke, Berlin-Dahlem

Mitteilungen aus der Biologischen Bundesanstalt für Land- und Forstwirtschaft Berlin-Dahlem, **Heft 103:**

Krieg, A., *Bacillus thuringiensis* Berliner, über seine Biologie, Pathogenie und Anwendung in der biologischen Schädlingsbekämpfung. 1961. 79 S. m. zahlr. Tabellen und Abbildungen. Kartoniert DM 12,40.

Die dem Andenken Ernst Berliners, welcher vor 50 Jahren die bakterielle Ursache einer Infektionskrankheit der Mehlmottenraupe erkannt hatte, gewidmete Monographie über *Bacillus thuringiensis*, gibt an Hand von über 200 Literaturangaben und zahlreichen, größtenteils noch unveröffentlichten eigenen Ergebnissen eine ausgezeichnete Übersicht über Biologie und Wirkungsmöglichkeit dieses neuerdings wieder im Vordergrund des Interesses stehenden Bazillus. Nachweis, Isolierung, Morphologie (unter Beifügung zahlreicher eigener Befunde und Bilder), Kulturverfahren und Taxonomie sind mit der gleichen Gründlichkeit abgehandelt wie die Frage der Produktion der für Raupen toxischen Endo- und Exotoxine und anderer wirksamer Produkte. Ein Bestimmungsschlüssel der *Bacillus cereus*-Gruppe, zu welcher *Bacillus thuringiensis* mit seinen verschiedenen Varietäten zählt, erleichtert die Indentifizierung. Reaktion gegen Umwelteinflüsse und Desinfizientien leiten zur Darstellung der Mikroökologie über. Die Wirksamkeit gegenüber Insekten wird sehr gründlich auf 31 Seiten abgehandelt, wobei neben den Kontaminationsbedingungen, dem Wirtsspektrum und der Pathologie des spezifischen Endotoxinkomplexes, wie des „Exotoxins", der Frage der natürlichen Ausbreitung, der Mischinfektion und der Wirksamkeitsbestimmung bzw. Standardisierung von Präparaten gebührend Raum gegeben wird. Nach Zusammenstellung der Daten über die Ungefährlichkeit gegenüber Säugetiere und Menschen werden die Erfahrungen über die Anwendung von *Bacillus thuringiensis* im Pflanzenschutz einschließlich aller Nebenwirkungen erörtert. Nachdem anschließend die zur Zeit noch bestehenden Schwierigkeiten in der Zulassung von Bazillenpräparaten geschildert werden, weist der Verfasser darauf hin, daß die Unschädlichkeit von *Bacillus thuringiensis* für Menschen, Nutztiere und Bienen gewährleistet sei, und daß bei ausreichender Selbstkontrolle und Standardisierung der Präparate die Überwachung eines anerkannten *Bacillus thurigiensis*-Präparates keiner strengeren Kontrolle bedarf als der üblichen Lebensmittelkontrolle. Auf Grund dieser Überlegungen, wie der Tatsache, daß selbst unter den Insekten im wesentlichen nur Schmetterlingsraupen durch das Sporenendotoxin geschädigt werden und dadurch ein ausgesprochen biozönoseschonender Einsatz eines solchen Mittels gewährleistet sei, gibt der Verfasser eine günstige Prognose für zukünftigen Einsatz.

Fuchs, Göttingen

Besprechungen

Clowes, F. A. L., Apical meristems. Bot. Monographs Vol. 2. Verl. Blackwell, Oxford 1961. 217 S., 42 Textabb., 32 Taf., Preis 37 s 6 d.

Bei biologischen Objekten ist die Formenmannigfaltigkeit meistens größer als Typisierungsversuche es zulassen. Während der wissenschaftlichen Bearbeitung eines solchen Gegenstandes zeigt es sich daher häufig, daß der Rahmen der zunächst gefundenen Regeln bald nicht mehr ausreicht. Daß nicht alle höheren Pflanzen mit einer Scheitelzelle wachsen, ist seit langem erwiesen. Daß auch die mit einer prospektiven Bedeutung belasteten HANSTEIN'schen Termini (Dermatogen, Periblem, Plerom), nicht allgemein anwendbar sind, wurde allmählich bekannt. Für das Gebiet der Scheitelmeristeme liegt nun ein verdienstvoller Versuch von CLOWES vor, die auch hier vorhandene strukturelle Vielfalt nicht mehr in Typen einzuordnen, sondern sie auf wenige einfache und übersehbare Grundphänomene zurückzuführen.

Entsprechend dem bei den Kormophyten vorhandenen bipolaren Wachstum ist auch die Gliederung des Buches in Sproß- und Wurzelmeristeme vorgenommen worden. Im ersten Teil erhält man Auskunft über die bei den einzelnen Pflanzen sehr unterschiedliche anatomische Struktur des Sproßscheitels sowie über Ort und Verlauf der Zellteilungen. Zur Charakterisierung der Strukturen des Vegetationskegels — soweit sie sich nicht auf eine Scheitelzelle zurückführen lassen — wird die Tunica-Corpus-Konzeption von BUDER und SCHMIDT als immer noch vielseitig anwendbare rein topographische Kennzeichnung des Scheitels befürwortet. Die Zellteilungsfrequenz hat man oft durch Analyse der Mitosehäufigkeit am fixierten Objekt ermittelt. Die Brauchbarkeit dieser Methodik muß sehr kritisch betrachtet werden, zumal wir heute aus Vitalbeobachtungen am Scheitel wissen, daß die Teilung von Zellen innerhalb des gleichen Gewebes von unterschiedlicher Dauer sein kann. Eindeutiger sind daher die Ergebnisse, die Verfasser durch den Nachweis des Einbaus markierter Vorstufen in die DNS erhalten hat. Danach sind sowohl die Scheitelzelle der Farne als auch der Spitzenbezirk des Vegetationskegels Hauptorte der Zellteilung. Das Vorhandensein eines teilungsinaktiven „méristème d'attente", wie es von der französischen Schule postuliert wird, hat sich danach nicht bestätigt. In gesonderten Abschnitten werden die mit den Vorgängen am Scheitelmeristem zusammenhängenden Fragen der Differenzierung des Leitgewebes, der Entwicklung von Blattanlagen und Achselknospen, der Bildung von Chimären sowie das Dickenwachstum und die Entwicklung der floralen Phase behandelt. Ein eigenes Kapitel ist dem Scheitel der Gymnospermen gewidmet. Da auch die Wurzelspitze im wesentlichen aus zwei übereinanderliegenden, relativ selbständigen Gewebekomponenten aufgebaut ist, läßt sie sich mit der Sproßspitze direkt vergleichen. Auf einen nicht populär gewordenen Vorschlag SCHÜEPPS (1917) zurückgehend könnte man sie als „Körper" und „Kappe" bezeichnen. Die Kappe unterscheidet sich von der Tunica dadurch, daß die Zahl ihrer Schichten zur Spitze hin etwa in dem Maße zunimmt, wie sie außen an der Kalyptra verbraucht wird, während die Zahl der Tunicaschichten konstant bleibt. Zwischen Körper und Kappe kann es in vielen Fällen fließende Übergänge geben; die Grenze kann aber auch scharf markiert sein wie bei den Gräsern, bei denen die Wurzelhaube allein zur Kappe gehört. Es gibt also auch für den Wurzelpol keinen einheitlichen Scheitelbauplan. Die Untersuchungen des Verfassers zur Analyse der Teilungsfrequenz mit Hilfe der Autoradiographie konnten eindeutig zeigen, daß die Wurzelspitze — von Embryonalstadien abgesehen — ein teilungsinaktives ruhendes Zentrum (= „quiescent centre") dort besitzt, wo man bisher das Zentrum der meristematischen Tätigkeit gesucht hat.

An der Oberfläche dieses ruhenden Bezirkes befindet sich das eigentliche Promeristem, das basipetal den „Körper" und akropetal die „Kappe" aufbaut. Weitere Abschnitte berichten von der Embryonalentwicklung, der Bildung von Seitenwurzeln und von der anatomischen Differenzierung, die oft mit Polyploidisierung verbunden ist, und über die Ergebnisse der chemischen Analyse der einzelnen Regionen. Ausblicke auf zukünftig mögliche Leistungen der biochemischen und der elektronenoptischen Methodik beschließen das Werk, das durch die logische Entwicklung seiner Gedankengänge und durch die klare Sprache auch didaktisch von hohem Wert ist.

Clowes ist damit eine wirklich allgemein gültige Darstelllung von den Vorgängen an den Scheitelpunkten der Kormophyten gelungen, die in stetem Zusammenhang mit den Ergebnissen der modernen experimentellen Forschung alle aktuellen Probleme berührt. Man darf erleichtert feststellen, daß, aus dieser Sicht betrachtet, ein Teil der älteren Literatur ohne Schaden entbehrlich zu sein scheint. Die sachlich konzentrierte Bearbeitung des Stoffes macht dieses Buch auch für den Praktiker empfehlenswert und notwendig, wenn er etwas über die dynamischen Prozesse beim Wachstum seiner Pflanzen erfahren will, zumal in deutscher Sprache kürzlich ein Werk ähnlichen Inhalts erschienen ist (Handbuch der Pflanzenanatomie, Band VIII, 3), das in seiner einseitig stilisierenden und etwas dogmatischen Diktion den heute vorliegenden Tatsachen nicht mehr ganz gerecht wird und den vierfachen Preis kostet.

Thielke, Berlin-Dahlem

Mitteilungen aus der Biologischen Bundesanstalt für Land- und Forstwirtschaft Berlin-Dahlem, **Heft 103:**

Krieg, A., *Bacillus thuringiensis* Berliner, über seine Biologie, Pathogenie und Anwendung in der biologischen Schädlingsbekämpfung. 1961. 79 S. m. zahlr. Tabellen und Abbildungen. Kartoniert DM 12,40.

Die dem Andenken Ernst Berliners, welcher vor 50 Jahren die bakterielle Ursache einer Infektionskrankheit der Mehlmottenraupe erkannt hatte, gewidmete Monographie über *Bacillus thuringiensis,* gibt an Hand von über 200 Literaturangaben und zahlreichen, größtenteils noch unveröffentlichten eigenen Ergebnissen eine ausgezeichnete Übersicht über Biologie und Wirkungsmöglichkeit dieses neuerdings wieder im Vordergrund des Interesses stehenden Bazillus. Nachweis, Isolierung, Morphologie (unter Beifügung zahlreicher eigener Befunde und Bilder), Kulturverfahren und Taxonomie sind mit der gleichen Gründlichkeit abgehandelt wie die Frage der Produktion der für Raupen toxischen Endo- und Exotoxine und anderer wirksamer Produkte. Ein Bestimmungsschlüssel der *Bacillus cereus*-Gruppe, zu welcher *Bacillus thuringiensis* mit seinen verschiedenen Varietäten zählt, erleichtert die Indentifizierung. Reaktion gegen Umwelteinflüsse und Desinfizientien leiten zur Darstellung der Mikroökologie über. Die Wirksamkeit gegenüber Insekten wird sehr gründlich auf 31 Seiten abgehandelt, wobei neben den Kontaminationsbedingungen, dem Wirtsspektrum und der Pathologie des spezifischen Endotoxinkomplexes, wie des „Exotoxins", der Frage der natürlichen Ausbreitung, der Mischinfektion und der Wirksamkeitsbestimmung bzw. Standardisierung von Präparaten gebührend Raum gegeben wird. Nach Zusammenstellung der Daten über die Ungefährlichkeit gegenüber Säugetiere und Menschen werden die Erfahrungen über die Anwendung von *Bacillus thuringiensis* im Pflanzenschutz einschließlich aller Nebenwirkungen erörtert. Nachdem anschließend die zur Zeit noch bestehenden Schwierigkeiten in der Zulassung von Bazillenpräparaten geschildert werden, weist der Verfasser darauf hin, daß die Unschädlichkeit von *Bacillus thuringiensis* für Menschen, Nutztiere und Bienen gewährleistet sei, und daß bei ausreichender Selbstkontrolle und Standardisierung der Präparate die Überwachung eines anerkannten *Bacillus thurigiensis*-Präparates keiner strengeren Kontrolle bedarf als der üblichen Lebensmittelkontrolle. Auf Grund dieser Überlegungen, wie der Tatsache, daß selbst unter den Insekten im wesentlichen nur Schmetterlingsraupen durch das Sporenendotoxin geschädigt werden und dadurch ein ausgesprochen biozönoseschonender Einsatz eines solchen Mittels gewährleistet sei, gibt der Verfasser eine günstige Prognose für zukünftigen Einsatz.

Fuchs, Göttingen

Handbuch der Landwirtschaft

2. Auflage in fünf einzeln käuflichen Bänden, 1952/54

Unter Mitwirkung von 57 Wissenschaftlern herausgegeben von den Professoren Dr. Dr. h. c. Th. Roemer, Dr. A. Scheibe, Dr. Dr. h. c. J. Schmidt, Dr. Dr. h. c. E. Woermann

Band I: Ackerbaulehre

654 Seiten mit 130 Abbildungen. Ganzleinen DM 66,—

Boden als Standort der Pflanzen • Mikrobiologie des Bodens • Klima und Witterung. • Meliorationen • Fruchtwechsel • Bodenbearbeitung • Unkrautbekämpfung • Ernährung und Düngung der Pflanzen • Gründüngung • Saat- und Pflanzgut • Pflanzenkrankheiten.

Band II: Pflanzenbaulehre

794 Seiten mit 184 Abbildungen. Ganzleinen DM 79,—

Getreide der gemäßigten Zone • Mais und Hirse • Getreidequalität, Brot und Nährmittel • Kartoffelbau • Rübenbau • Hülsenfruchtbau • Ölfruchtbau • Feldfutter- und Zwischenfruchtbau • Wiesen und Weiden.

Band III: **Allgemeine Tierzuchtlehre**

443 Seiten mit 82 Abbildungen. Ganzleinen DM 46,—

Band IV: **Besondere Tierzuchtlehre**

548 Seiten mit 245 Abbildungen. Ganzleinen DM 60,—

Band V: **Wirtschaftslehre des Landbaues**

790 Seiten mit 34 Abbildungen. Ganzleinen DM 73,—

Preis des Gesamtwerkes DM 296,—, bei Teilzahlung DM 325,—

Das „Handbuch der Landwirtschaft" ist das umfassendste deutsche Werk der Landwirtschaft. Für Lehre, Forschung und Praxis stellt es eine immer zuverlässige Quelle der Unterrichtung dar.

„Der Zweck des Handbuches der Landwirtschaft ist es, der gesamten deutschsprachigen Landwirtschaft, dem fortschrittlichen Landwirt ebenso wie Behörden, Genossenschaften, Studierenden, Industrie und den Forschungsstellen einen umfassenden Überblick über die Ergebnisse weltweiter Forschung und Erfahrung in die Hand zu geben und sie als einzigartiges Mittel der Unterrichtung zu nutzen und auf diesen Erkenntnissen weiter erfolgreich aufzubauen."

Praxis und Forschung

VERLAG PAUL PAREY · BERLIN UND HAMBURG

Literatur zur HCH- und Diën-Gruppe

Von Prof. Dr. R. Riemschneider, Berlin

Sonderdrucke aus „Zeitschrift für angewandte Entomologie"

Liste III. 1952. 128 Seiten. Kartoniert DM 25,—

Liste V. 1953. 56 Seiten. Kartoniert DM 9,60

Diese Schriften enthalten das von dem Verfasser bis 1951 registrierte Literaturmaterial über die Insektizide der HCH- und Diën-Gruppe. Die über 4000 Titel mit Angabe von Referenten sowie von Arbeitsschwerpunkten und behandelten Insektizidgruppen bedeuten für Wissenschaft und Praxis eine wichtige international zu wertende Unterstützung in ihrer vielseitigen Arbeit.

Mitteilungen aus der Biologischen Bundesanstalt für Land- und Forstwirtschaft Berlin-Dahlem

Herausgegeben von der Biologischen Bundesanstalt für Land- und Forstwirtschaft Berlin-Dahlem

Heft 95 **Zur Toxikologie der Insektizide.**
Literaturübersicht. 1. Teil: Diën-Gruppe. Von Dr. P. Steiner und Dr. W. Gruch.
1959. 118 Seiten mit 42 Tabellen. Kartoniert DM 13,30

Heft 96 **Biologische Untersuchungen über die Entwicklung von Hylotrupes bajulus L. (Hausbockkäfer).** Von Dr. A. Körting.
1959. 35 Seiten mit 7 Abbildungen und 15 Tabellen. Kartoniert DM 6,20

Heft 97 **32. Deutsche Pflanzenschutztagung.** 6. bis 10. Oktober 1958.
1959. 262 Seiten mit 79 Abbildungen und 4 Kunstdrucktafeln. Kartoniert DM 33,30

Heft 98 **Die Krankheiten der Weide und deren Erreger.** Von Dr. H. Butin.
1960. 46 Seiten mit 27 Abbildungen. Kartoniert DM 7,80

Heft 99 **Hackfruchtkrankheiten und Nematodenforschung.** Festschrift.
1960. 119 Seiten mit 27 Abbildungen und 5 Tafeln. Kartoniert DM 17,40

Heft 100 **Das Trichogramma-Problem.** Von Dr. K. Mayer und Dr. W. Quednau.
1960. 50 Seiten mit zahlreichen Abbildungen. Kartoniert DM 9,60

Heft 101 **Standorteinflüsse und natürliche Feinde als Begrenzungsfaktoren von Melolontha-Larvenpopulationen eines Waldgebietes.** Von Dr. O. F. Niklas.
1961. 60 Seiten mit 9 Abbildungen. Kartoniert DM 8,30

Heft 102 **Zur Toxikologie der Insektizide.** Literaturübersicht.
2. Teil: Toxaphen-Gruppe. Von Dr. W. Gruch und Dr. P. Steiner.
1961. 64 Seiten mit zahlreichen Tabellen. Kartoniert DM 11,30

Heft 103 **Bacillus thuringiensis Berliner.** Von Dr. A. Krieg.
1961. 79 Seiten mit zahlreichen Tabellen und Abbildungen. Kartoniert DM 12,40

VERLAG PAUL PAREY · BERLIN UND HAMBURG